

Aus dem Pathologischen Institut
der Universität Erlangen - Nürnberg
(Direktor: Professor Dr. Volker Becker)

Vergleichende elektronenmikroskopische Myokarduntersuchungen nach verschiedenen Herzstillstandsverfahren

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
dem Fachbereich Medizin
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen - Nürnberg

vorgelegt von
Bernd Leiß
aus Erlangen

1975

Aus dem Pathologischen Institut
der Universität Erlangen-Nürnberg
(Direktor: Professor Dr. Volker Becker)

Vergleichende elektronenmikroskopische Myokarduntersuchungen nach verschiedenen Herzstillstandsverfahren

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
dem Fachbereich Medizin
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Bernd Leiß
aus Erlangen

Gedruckt mit Erlaubnis des Fachbereichs Medizin
der Universität Erlangen-Nürnberg

Dekan: Prof. Dr. E. Rügheimer

Referent: Prof. Dr. V. Becker

Tag der mündlichen Prüfung: 14. Oktober 1975



Meinen Eltern in tiefer Dankbarkeit

gewidmet.

Herrn Prof.Dr.med. Volker Becker,
Direktor des Pathologischen Instituts
der Universität Erlangen-Nürnberg,
danke ich herzlich für die Vergabe
dieser Arbeit,für die vielen kritischen
Anregungen und die Übernahme des
Referates.

Herrn Dr.med. Robert Hacker,Oberarzt
an der Chirurgischen Klinik mit
Poliklinik der Universität Erlangen-
Nürnberg und Herrn Dr.med.Manfred Stolte,
Wissenschaftlicher Assistent am
Pathologischen Institut der Universität
Erlangen-Nürnberg,danke ich sehr für
die vielfältigen Hilfen bei der Planung
und Durchführung der Untersuchungen
und der Auswertung und kritischen
Würdigung der Befunde.

E i n l e i t u n g

Operationen am eröffneten Herzen gehören heute dank des enormen Fortschrittes der chirurgischen, anästhesiologischen und apparativen Technik zu Routineeingriffen in vielen chirurgischen Kliniken. Bei diesen Operationen ergeben sich prinzipiell zwei Probleme:

1. Das Herz muß nach Beendigung des Eingriffs seine Funktion wieder optimal erfüllen und
2. der Blutkreislauf des Organismus muß während der Ausschaltung des Herzens aufrechterhalten werden.

Das zweite Problem besteht infolge der Entwicklung moderner Herz-Lungen-Maschinen nicht mehr. Bei der Lösung des ersten Problems stehen sich zwei Extreme mit Vor- und Nachteilen gegenüber:

1. Die Koronarperfusion mit Blut sorgt zwar dafür, daß Struktur und Funktion des Herzens erhalten bleiben, das Verfahren ist aber technisch komplikationsreich, und die Arbeit des Operateurs wird durch ein bewegtes blutiges Operationsfeld behindert.
2. Das völlig erschlaffte blutleere Herz wäre operationstechnisch ideal, die Ischämie führt jedoch zur strukturellen und funktionellen Schädigung des Herzmuskels.

Bis zum Eintritt irreversibler Schädigungen durch die Ischämie infolge der unzureichenden Deckung des Energiebedarfs vergeht jedoch eine Toleranzzeit. In der humanen Herzchirurgie ist sie präoperativ vielfach nicht mit Sicherheit voraussehbar, da sie u.a. von der Vorschädigung der Muskulatur durch die Grundkrankheit abhängig ist. Die nicht konstante individuelle Ischämietoleranzzeit ist einerseits der limitierenden Faktor für Operationen am stillstehenden Herzen, andererseits aber auch die zu beeinflussende Variable. Durch Vergrößerung der Energiereserven vor

Beginn der Ischämie oder der Verminderung des Energiebedarfs während des Herzstillstands läßt sich nämlich die tolerierbare Dauer der Ischämie und damit die Über- und Wiederbelebungszeit verlängern.

Deshalb werden in neuerer Zeit neben der normothermen Ischämie durch Abklemmen der Aorta ascendens und somit Unterbrechung der koronaren Zirkulation vor allem zwei Formen des induzierten Herzstillstands angewendet, um die Ischämietoleranz zu verbessern:

- a) Das elektrisch induzierte Herzkammerflimmern bei erhaltener Koronarperfusion und
- b) der kardioplegische Herzstillstand mit der von KIRSCH (1969) entwickelten kardioplegischen Lösung aus 2,5 % Magnesium-l-Aspartat, 0,3 % Procain und 4,5 % Sorbit (Cardioplegin^R, Fa. Köhler-Chemie).

Ziel unserer Untersuchungen war ein objektiver tierexperimenteller Vergleich dieser drei Methoden des Herzstillstands anhand funktioneller und morphologischer Parameter.

Da man mit der Elektronenmikroskopie Strukturstörungen bereits zu einem sehr frühen Zeitpunkt der Schädigung erkennen kann, haben wir diese Methode für die vergleichenden morphologischen Untersuchungen gewählt. Aus der Sicht des Morphologen ergaben sich daraus zusätzliche spezielle Fragestellungen:

1. Ergeben sich bei standardisierten Operationsverfahren in Abhängigkeit vom Herzstillstandsverfahren und von der Ischämiezeit Unterschiede in der Ultrastruktur?
2. Stimmen die Ultrastrukturbefunde des Myokard nach Herzstillstand und Reperfusion mit den Funktionsparametern überein? Lassen sich aus elektro-

nenmikroskopischen Untersuchungen Rückschlüsse auf die Funktion des Herzmuskels ziehen?

3. Welche morphologischen Kriterien eignen sich am besten zur Beurteilung ischämischer Schäden?

M a t e r i a l u n d M e t h o d e

Die Versuche wurden an 40 Hunden verschiedener Rassen durchgeführt. 10 dieser Hunde wurden aus unterschiedlichen Gründen nicht für diese Untersuchung ausgewertet. Von den 30 verbleibenden Versuchstieren im Alter zwischen zwei und elf Jahren (Zahnaltersbestimmung nach DOBBERSTEIN und KOCH 1954) waren 17 männlich und 13 weiblich, das Durchschnittsgewicht lag bei 30 kg. Nach Intubationsnarkose wurde unter aseptischen Bedingungen eine bilaterale transsternale Thorakotomie durchgeführt, der Herzbeutel der Länge nach gespalten, ein Druckmeßkatheter von der Aortenwurzel in den linken Ventrikel vorgeschoben und ein elektromagnetischer Strömungsaufnehmer um die Aorta ascendens angelegt. Nach Anlegen der Ableitungen für ein Extremitäten-Elektrokardiogramm wurde das Blut heparinisiert und in die linke Femoralarterie ein Druckmeßkatheter eingeführt.

Zur venösen und arteriellen Kanülierung für die extrakorporale Zirkulation wurden über den rechten Vorhof bzw. die rechte Arteria femoralis PVC-Schläuche eingeführt. Die Herz-Lungen-Maschine bestand für die extrakorporale Zirkulation und die Absaugungen aus je einem Rollerpumpen-Aggregat (Fa. ULLRICH) und für die Oxygenation des Blutes aus einem Bubble-Oxygenator (RYGG-KYVSGAARD-Thermooxygenator small size) mit eingebautem Wärmeaustauscher (Fa. POLYSTAN). Die

Herz-Lungen-Maschine wurde mit 1.500 ml 5%iger Glukoselösung gefüllt, die Fördervolumina während der extrakorporalen Zirkulation lagen zwischen 50 und 80 ml/min x kg Körpergewicht, das Verhältnis von Sauerstoff-Fluß im Oxygenator zum geförderten Blutvolumen bei etwa 2 : 1.

Die Versuche wurden nach folgendem Schema durchgeführt (s. Abb. 1):

Nach Vorbereitung und Narkose erfolgte der Anschluß des Kreislaufs an die Herz-Lungen-Maschine, dann wurde das Herz für 30 bzw. 45 Minuten stillgelegt. Danach wurde die Durchblutung des Myokard wieder hergestellt, der Versuch wurde nach einer 60-minütigen Erholungszeit beendet. Nach Anschluß an die Herz-Lungen-Maschine, nach 30 bzw. 45 Minuten Ischämiezeit und nach der einstündigen Erholungszeit wurden ca. 1,5 cm im Durchmesser große Excisionen aus der spitzennahen Vorderwand des rechten und linken Ventrikels für die elektronenmikroskopischen Untersuchungen entnommen.

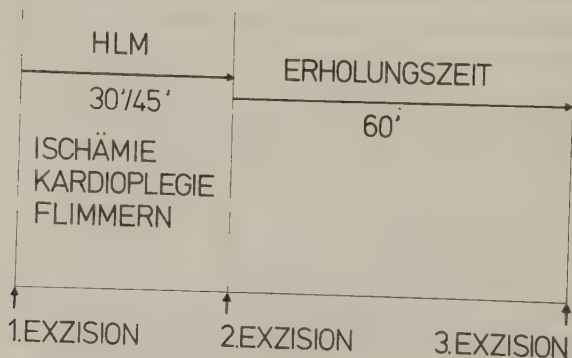


Abb. 1:

Schema des Versuchsablaufs (HLM = Herz-Lungen-Maschine).

Die drei Herzstillstandsformen wurden an jeweils 10 Hunden untersucht, bei 6 von diesen Tieren wurde eine Ischämiezeit von 45 Minuten, bei 4 von 30 Minuten gewählt (s. Tab. 1).

Tabelle 1:

Gruppierung der Versuchstiere nach Art und Dauer des Herzstillstandverfahrens

I.	Ischämischer Herzstillstand	(n = 10)
	von 45 min Dauer	(n = 6)
	von 30 min Dauer	(n = 4)
II.	Kardioplegischer Herzstillstand	(n = 10)
	von 45 min Dauer	(n = 6)
	von 30 min Dauer	(n = 4)
III.	Induziertes Kammerflimmern	(n = 10)
	von 45 min Dauer	(n = 6)
	von 30 min Dauer	(n = 4)

Der ischämische Herzstillstand wurde durch Abklemmen der Aorta ascendens eingeleitet. Am Ende der Ischämiezeit wurde die Durchblutung der Koronararterien durch Aufhebung der Aortenabklemmung wieder hergestellt. Beim kardioplegischen Herzstillstand wurde nach Abklemmen der Aorta ascendens Cardioplegin^R in einer Dosierung von 2 ml/kgKG innerhalb von etwa 10 sec in die Aortenwurzel injiziert. Auch hier wurde der Herzstillstand durch Entfernen der Aortenklemme beendet.

Das induzierte Kammerflimmern wurde durch einen wenige Sekunden einwirkenden elektrischen Wechselstrom mit einer Frequenz von 50 Hertz und einer Ausgangsspannung

von 4 Volt erzeugt (Electric Fibrillator, Fa. Medtronic, Inc.). Die Flimmeraktivität wurde durch elektrische Defibrillation mit 20-40 Wsec beendet (Dc-Defibrillator, Fa. Corbin Farnsworth Inc.).

Bei allen Herzstillstandsformen wurde sowohl der linke wie auch der rechte Ventrikel durch Inzisionen an der Herzspitze dekomprimiert.

Folgende Registrierungen wurden während des Versuchs kontinuierlich vorgenommen:

- die Druckkurven des linken Ventrikels und der linken Arteria iliaca communis,
- die erste Ableitung des Ventrikeldruckes nach der Zeit (dp/dt),
- der mittlere Fluß in der Aorta ascendens und
- das Elektrokardiogramm.

Aus den registrierten Kurven wurden jeweils für die Zeitpunkte vor Herzstillstand sowie 10, 20, 30, 40, 50 und 60 Minuten nach Herzstillstand folgende Funktionsparameter bestimmt:

- Herzfrequenz,
- systolischer und diastolischer Druck in der linken Beckenarterie,
- linksventrikulärer Spitzendruck,
- linksventrikulärer enddiastolischer Druck,
- maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit,
- der Quotient aus maximaler Druckanstiegsgeschwindigkeit und gleichzeitig entwickeltem isovolumetrischem Ventrikeldruck und
- der Blutfluß durch die Aorta ascendens.

Außerdem wurden wenige Minuten nach Operationsbeginn, 5 min nach Beginn der extrakorporalen Zirkulation, am Ende des Herzstillstandes und zu Versuchsende die Serumelektrolyte, Natrium, Kalium, Calcium und Chlor, die arteriellen und venösen Werte des pH, der Sauerstoffspannung, der Kohlensäurespannung, das Standard-

bicarbonat und der Basenüberschuß bestimmt.

Ein suffizienter Kreislauf zu Versuchsende wurde angenommen, wenn die Tiere wenigstens in den letzten 10 Minuten vor Ende der einstündigen Erholungszeit ohne Unterstützung der Herz-Lungen-Maschine konstante haemodynamische Parameter aufwiesen. Dieses Kollektiv haben wir jedoch - nach der Dauer der notwendigen Unterstützung durch die extrakorporale Zirkulation - in zwei Gruppen unterteilt und die Hunde mit mehr als 50 Minuten Herz-Lungen-Maschinen-Kreislauf wurden der dritten Gruppe zugeordnet. Nach dem Ergebnis der Kreislaufbeurteilung ergaben sich also drei Gruppen von Versuchstieren für die elektronenmikroskopische Untersuchung:

1. "Stabiler Kreislauf" bei Reperusionszeiten von 5 bis 15 Minuten,
2. "instabiler Kreislauf" bei 44 bis 50 Minuten Reperusionszeiten und
3. Herz-Lungen-Maschinen-Kreislauf länger als 50 min.

Die Biopsien zur elektronenmikroskopischen Untersuchung wurden - immer vom gleichen Untersucher - nur wenige Sekunden nach Herstellen des extrakorporalen Kreislaufs, vor Ende der 30- bzw. 45-minütigen Ischämie und nach der einstündigen Erholungszeit aus der spitzen-nahen Vorderwand des linken und rechten Ventrikels entnommen. Aus diesen Excisionen wurden sofort aus den mittleren subendokardialen Abschnitten Blöcke von wenigen mm Kantenlänge zugeschnitten und in eisgekühltem 2,5 %igem Glutaraldehyd fixiert. Nach Fixation erfolgte bei 30-facher Vergrößerung unter einem Auflichtstereomikroskop der Zuschnitt der in eisgekühltem Glutaraldehyd liegenden Blöcke in Muskelfaserlängsrichtung. Nach eineinhalbstündiger Nachfixierung in 1 %iger Osmiumsäure, Pufferung und Entwässerung über die aufsteigende Acetonreihe, wurden die Excidate gerichtet

in Durcupan^R eingebettet. Zur Kontrolle der Einbettungsrichtung wurden Semidünnschnitte angefertigt und mit 0,1 %iger Toloidinblaulösung gefärbt. Die Ultradünnschnitte (Ultramikrotom UM 1, Fa. Reichert) wurden mit Uranylacetat und Bleicitrat kontrastiert. Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen erfolgten mit dem Elmiskop 101 (Fa. Siemens). Die Originalvergrößerungen reichten von 4.000 bis 12.000-fach, Nachvergrößerungen geschahen fotografisch. Elektronenmikroskopisch untersucht wurden die Excisionen von insgesamt 12 Hunden. Die Kriterien für die Auswahl waren die haemodynamischen Parameter und die Herzstillstandszeiten (s. Tab. 2).

Tabelle 2:

Aufgliederung der elektronenmikroskopisch untersuchten Herzmuskelexcisionen von 12 Hunden (sK = stabiler Kreislauf, iK = instabiler Kreislauf, MK = Maschinenkreislauf).

1. Normothermer Herzstillstand

Hund 25	45 min	sK
Hund 32	45 min	sK
Hund 38	45 min	iK
Hund 20	45 min	MK

2. Kardioplegischer Herzstillstand

Hund 24	45 min	sK
Hund 40	45 min	sK
Hund 36	45 min	iK
Hund 27	45 min	MK
Hund 33	45 min	MK

3. Induziertes Kammerflimmern

Hund 26	45 min	sK
Hund 31	30 min	sK
Hund 35	45 min	sK

Die rechtsventrikuläre Excision wurde nur einmal elektronenmikroskopisch untersucht (Hund Nr. 35). Von allen anderen Tieren wurden die linksventrikulären

Excisionen nach der Ischämie- und nach der Erholungsphase elektronenmikroskopiert, von den Hunden Nr. 20, 24, 31, 32 und 33 zusätzlich die Excisionen vor Beginn des Herzstillstands.

Der Grad der Schädigung des Myokard wurde vergleichend qualitativ und semiquantitativ beurteilt. Für diese Beurteilung wurden in Anlehnung an HÜBNER (1971) folgende morphologische Veränderungen herangezogen:

Glycogenverlust im Sarkoplasma,
Schwellung der Mitochondrien,
Verlust der intramitochondrialen Granula,
Vakuolisierung der Mitochondrien,
Matrixverlust der Mitochondrien,
Destruktion der Cristae mitochondriales,
interstitielles Ödem,
Veränderungen der Myofibrillenstruktur.

Eine Quantifizierung der Schwere der beobachteten Veränderungen wurde durch eine Stadieneinteilung von "normal" (0) über "geringgradig" (+), "mittelgradig" (++), "hochgradig" (+++) bis zu "exzessiv verändert" (++++), versucht. Der zusammenfassende Eindruck der Veränderungen aller genannten Strukturen wurde unter dem Begriff "Myokardschädigung" subsummiert und nach dem gleichen Schema beurteilt.

E r g e b n i s s e

I. Kreislauf bei Versuchsende

Über die vergleichenden haemodynamischen Untersuchungen nach den drei Herzstillstandsformen wird an anderer Stelle ausführlich berichtet (HACKER 1975). Hier soll zur Einleitung der morphologischen Befunde nur mitgeteilt werden, daß sich sowohl in der Ischämie- als auch in der Kardioplegie-Gruppe nach 45-minütigem Herzstillstand ein Absinken der Kontraktilitätsindices und ein Nachlassen der Pumpfunktion des linken Ventrikels einstellte. Nach 45-minütigem Kammerflimmern lagen dagegen alle gemessenen Funktionsparameter in Höhe der vor dem Herzstillstand gefundenen Werte. Auch die unterschiedlich langen Erholungszeiten in den einzelnen Kollektiven zeigten die Überlegenheit des Kammerflimmerns: die extrakorporale Zirkulation dauerte vom Ende des 45-minütigen Herzstillstands bis zum Eintritt einer ausreichenden Kreislaufsituation ohne Unterstützung durch die Herz-Lungen-Maschine in der Ischämie-Gruppe im Mittel 36,3 Minuten ($\bar{s} = 10,8 \text{ min}$), in der Kardioplegie-Gruppe 26,3 Minuten ($\bar{s} = 12,4 \text{ min}$) und in der Flimmer-Gruppe 14,2 Minuten ($\bar{s} = 4,6 \text{ min}$).

Die Einteilung der Versuchstiere nach dem haemodynamischen Ergebnis am Ende der einstündigen Erholungszeit sind in Abbildung 2 dargestellt. In der Gruppe "ischämischer Herzstillstand" hatten 5 Versuchstiere nach Ende der Erholungszeit einen stabilen Kreislauf, in 4 Fällen war der Kreislauf instabil und bei einem Hund war er nur mit Hilfe der Herz-Lungen-Maschine aufrechtzuerhalten.

In der Gruppe "kardioplegischer Herzstillstand" hatten ebenfalls bei Versuchsende 5 Hunde einen stabilen Kreislauf, bei einem war eine Reperfu-sionszeit von 50 Minuten erforderlich und bei 4 Tieren war er nur mit der extrakorporalen Zir-kulation aufrechtzuerhalten.

In der Gruppe "induziertes Kammerflimmern" waren nach Beendigung des Herzstillstandes nur relativ kurze Reperfu-sionszeiten nötig, und zu Versuchs-ende herrschte ein suffizienter Kreislauf. Auch das bei 6 von 10 Tieren durchgeführte 45-minütige Flimmern hatte keinen Einfluß auf das gute haemo-dynamische Ergebnis nach der Erholungsphase.

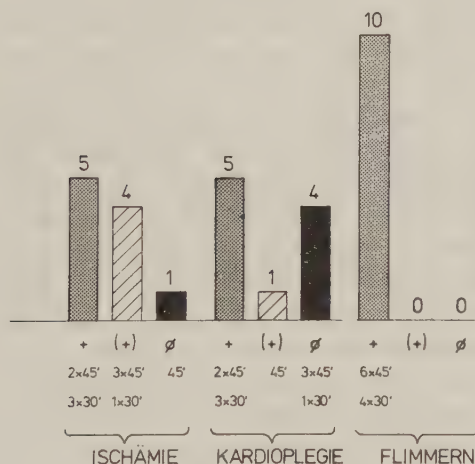


Abb. 2:

Haemodynamisches Ergebnis bei 30 Versuchstieren nach ischämischem und kardioplegischem Herzstillstand und nach induziertem Kammerflimmern. Gerasterte Säulen = stabiler Kreislauf = +; schraffierte Säulen = instabiler Kreislauf = (+); ausgefüllte Säulen = Maschinenkreislauf zu Versuchsende = Ø. Unter den Säulen sind jeweils die Herzstillstandszeiten angegeben.

II. Elektronenmikroskopische Befunde

1. Ischämischer Herzstillstand

Von den 10 Versuchstieren mit ischämischem Herzstillstand wurde das subendokardiale links-ventrikuläre Myokard von 4 Hunden untersucht. Bei 2 Tieren (Nr. 25 und 32, s. Tab. 3) war der Kreislauf bei Versuchsende stabil, einmal (Nr. 38) instabil, und bei Hund Nr. 20 war während der gesamten Erholungszeit eine extrakorporale Zirkulation notwendig, um den Kreislauf aufrechtzuerhalten.

- a) Hund Nr. 25, weiblich, Alter 3 Jahre, Gewicht 30 kg, Halothan-Narkose, stabiler Kreislauf bei Versuchsende.

Nach 45-minütigem ischämischem Herzstillstand zeigt sich elektronenmikroskopisch ein fast totaler Verlust der Glycogengranula. Die Myofibrillen sind durch ein ausgeprägtes interstitielles Ödem auseinandergedrängt und zeigen vereinzelt Spaltbildungen und Aufhellungszonen. Die Mitochondrien sind erheblich geschwollen, intramitochondriale Granula sind nicht mehr nachweisbar, außerdem besteht ein starker Matrixverlust und eine ausgeprägte Destruktion der Cristae.

Diese starke ischämische Schädigung ist nach 60-minütiger Erholungszeit, in der ein stabiler Kreislauf erreicht wird, deutlich zurückgebildet. Das interstitielle Ödem ist nur noch geringgradig, der Glycogenverlust mittelgradig. Die Mitochondrien sind vereinzelt geschwollen und vakuolisiert, intramitochondriale Granula sind auch jetzt nicht nachweisbar. Die Destruktion der Cristae ist als mäßig, der Matrixverlust als geringgradig einzustufen. An den Myofibrillen ist kein pathologischer Befund zu erheben.

Tabelle 3, 4 und 5:

Elektronenmikroskopische Befunde beim ischämischen (Tab. 3) und kardioplegischem (Tab. 4) Herzstillstand und beim induzierten Kammerflimmern (Tab. 5).

Zeichenerklärung:

Phase: vIRe = vor Ischämie rechts
 vILi = vor Ischämie links
 nIRe = nach Ischämie rechts
 nILi = nach Ischämie links
 nERe = nach Erholung rechts
 nELi = nach Erholung links

Narkoseart: N = Neurolept
 H = Halothan

Kreislauf zu
Versuchsende: + = stabiler Kreislauf
 (+) = instabiler Kreislauf
 $\emptyset$ = Kreislauf nur mit Herz-Lungen-
 Maschine aufrechtzuerhalten

Graduierung der elektronenmikroskopischen Befunde:

0 = keine Schädigung
+ = geringgradige Schädigung
++ = mittelgradige Schädigung
+++ = hochgradige Schädigung
++++ = exzessive Schädigung

Normothermie Ischämie Hund Nummer		25	32	38	20
Phase		nili 45 H	nili 45 N	nili 45 H	nili 45 N
Ischämiezeit, Narkoseart					
Kreislauf zu Versuchsende		+	+	(++)	0
Glykogenverlust		+++ ++	+ +++ +++++	++++ +++++	0 +++ +++++
Verlust der intramitochondrialen Granula		ja ja	ja ja ja	ja ja	0 ja ja
Schwellung		+++ +	0 + +++	++ +++	0 +++ +++
Vakuolisierung		+++ +	0 + +++	+++ +++	0 +++ +++++
Matrixverlust		+++ +	0 +++ +++	++ +++	0 +++ +++++
Destruktion der Cristae		+++ ++	0 + ++	+++ +++	0 +++ +++
Interstitielles Ödem		++ +	0 ++ +++	+++ +++	0 +++ +++++
Myofibrillenstruktur		+ 0	0 0 0	0 0	0 0 0
Myokardschädigung		+++ +	0 ++ +++	++ +++	0 +++ +++++

Tabelle 3

- b) Hund Nr. 32, männlich, 3 Jahre, 28,5 kg, Neurolept-Narkose, stabiler Kreislauf bei Versuchsende.

In der vor der Ischämie untersuchten Excision aus dem linksventrikulären Myokard zeigt sich nur ein Verlust der intramitochondrialen Granula. Nach 45-minütigem ischämischem Herzstillstand hat die Dichte des Zytoplasmas der Herzmuskelzellen abgenommen, der Glycogenverlust ist hochgradig. Die Mitochondrien sind mittelgradig geschädigt, sie sind geringgradig geschwollen und vakuolisiert, der Matrixverlust ist ausgeprägt, die Destruktion der Cristae dagegen nur geringgradig.

Im Vergleich zu dieser mittelgradigen ischämischen Schädigung zeigt sich nach der 60-minütigen Erholungszeit eine weitere Verschlechterung des elektronenmikroskopischen Bildes. Glycogengranula können nicht mehr nachgewiesen werden, die Dichte des Zytoplasmas der Herzmuskelzelle hat stark abgenommen, die Myofibrillen sind durch ein interstitielles Ödem erheblich auseinandergedrängt. Auch die Mitochondrien sind stark geschwollen und vakuolisiert, intramitochondriale Granula können nicht mehr nachgewiesen werden, der Verlust der Matrix ist ausgeprägt, die Destruktion der Cristae mittelgradig.

- c) Hund Nr. 38, weiblich, 1 1/2 Jahre, 30 kg, Halothan-Narkose, instabiler Kreislauf bei Versuchsende.

Nach 45 Minuten Ischämie ist das linksventrikuläre Myokard mittel- bis hochgradig geschädigt: Abnahme der Zytoplasmadichte, ausgeprägtes interstitielles Ödem, hochgradiger Glycogenverlust, vereinzelt fragmentierte Z-Streifen. Die Schädigung der Mitochondrien

ist unterschiedlich ausgeprägt: teilweise nur eine geringe Schwellung neben hochgradiger Vakuolisierung und Verschwinden der intramitochondrialen Granula, die Destruktion der Cristae ist teils mittel-, teils hochgradig. Vereinzelt findet man aber auch völlig destruierte Mitochondrien. Die Kapillarendothelien sind geringgradig geschwollen und zeigen zahlreiche Pinozytosebläschen.

Nach der Erholungsphase zeigt sich keine morphologische Änderung gegenüber dem Vorbefund, lediglich die Glycogengranula sind jetzt total verschwunden.

- d) Hund Nr. 20, männlich, 3 Jahre, 30 kg, Neurolept-Narkose, Maschinenkreislauf bei Versuchsende.

Im vor dem Herzstillstand entnommenen Myokard aus der spitzennahen Vorderwand des linken Ventrikels sind keine pathologischen Veränderungen der Ultrastruktur nachweisbar (siehe Abb. 3). Nach dem 45-minütigen Herzstillstand ist die Ultrastruktur erheblich destruiert (s. Abb. 4): die Mitochondrien sind teilweise völlig zerstört, die Zytoplasmadichte hat infolge des interstitiellen Ödems abgenommen, das sarkoplasmatische Retikulum ist erheblich dilatiert und die T-Tubuli teilweise fragmentiert, der Glycogenverlust ist hochgradig. An den Zellkernen sieht man einen Verlust der Grundsubstanz und eine Verdichtung des Chromatins in der Peripherie des Kerns (siehe Abb. 5).

Nach der Erholungsphase, in der keine geordneten Kontraktionen des Herzmuskels zu registrieren waren, ergibt die elektronenmikroskopische Untersuchung den Befund einer



Abb. 5: Excision aus der Vorderwand des linken Ventrikels vor ischämischem Herzstillstand (Hund Nr. 20): Im Längsrichtung geschnittene Myofibrillen elektronenmikroskopisch ohne ischämische Schädigung, regelrechte Mitochondrien, reichlich Glycogenranula, kein interstitielles Ödem (Vergrößerung 5000x, fotografische Nachvergrößerung auf 28000x).



Abb. 4: Nach 45-minütigem ischämischem Herzstillstand ist die Herzmuskulatur (Hund Nr. 20) hochgradig destruiert: Glycogengranula sind kaum noch auffindbar, die Myofibrillen durch ein hochgradiges interstitielles Odem auseinanderge-
drängt, die Mitochondrien zeigen Cristolyse, Umformung der Cristae in Myelinfiguren und sind teilweise völlig destru-
iert. (Vergrößerung 8000x, fotograf.Nachvergrößerung auf 32000x).



Abb. 5: Die Kerne der Herzmuskelzellen des Hundes Nr. 20 zeigen nach 45-minütigem ischämischem Herzstillstand eine starke Abnahme der Grundsubstanzdichte und eine Margination des Chromatins (Vergrößerung 20.000x, fotografische Nachvergrößerung auf 70.000x).

schwersten Zerstörung der Ultrastruktur des Herzmuskels. Der Glycogenverlust ist total, die Myofibrillen sind durch ein interstitielles Ödem stark auseinanderge-drängt, die Mitochondrien extrem geschwol-len und vakuolisiert, die Cristae fast völlig aufgelöst und in anderen Abschnitten in konzentrische Myelinfiguren umgewandelt (s. Abb. 6).

2. Kardioplegischer Herzstillstand

Für die elektronenmikroskopischen Untersuchungen wurden aus dieser Gruppe zwei Versuchstiere mit stabilem Kreislauf zu Versuchsende (Hund Nr. 24 und Nr. 40), einer mit instabilem Kreislauf (Hund Nr. 36) und zwei Tiere, bei denen in der Erholungsphase eine extrakorporale Zirkulation notwendig war, ausgewählt (Nr. 27 und Nr. 35, s. Tab. 4).

- a) Hund Nr. 24, weiblich, 4 Jahre, 38 kg, Neurolept-Narkose, stabiler Kreislauf bei Versuchsende.

Vor dem kardioplegischen Herzstillstand ist im linksventrikulären Myokard keine Abwei-chung von der normalen Ultrastruktur fest-stellbar. Nach 45-minütiger Unterbrechung der koronaren Zirkulation sieht man eine mittelgradige Schädigung mit mäßigem Glycogenverlust, interstitiellem Ödem, mäßiger Schwellung und Vakuolisierung der Mitochon-drien und Verlust der intramitochondrialen Granula, die Cristae sind geringgradig de-struiert. Beidseits der Z-Streifen zeigen sich in den Myofibrillen vereinzelt schmale Aufhellungsbänder.

Kardioplegie Hund Nummer	24	40	36	33	27
Phase	vili nili neli	nili neli	nili neli	vili nili neli	nili neli
Ischämiezeit, Narkoseart	45 N	45 H	45N	45N	45H
Kreislauf zu Versuchsende	+	+	(+)	0	0
Glykogenverlust	0 ++ +	+ ++	+++ +++++	0 +++++ +++++	+++++ +++++
Verlust der intramitochondrialen Granula	0 ja ja	ja ja	ja ja	0 ja ja	ja ja ja
Schwellung	0 ++ 0	0 +	+ +++++	0 ++ ++	++ +++++
Vakuolisierung	0 ++ 0	(+) +	+ +++++	0 ++ +++++	0 +++++
Matrixverlust	0 + 0	0 0	++ +++++	0 ++ ++	++ +++++
Destruction der Cristae	0 + 0	0 0	+ ++	0 ++ ++	+++ +++++
Interstitielles Ödem	0 ++ +	+ ++	+ +++++	0 +++++ +++++	+++ +++++
Myofibrillenstruktur	0 0 0	0 0	0 0	0 0 0	0 +++++
Myokardschädigung	0 ++ +	+ ++	+ +++++	0 ++ +++++	++ +++++

Tabelle 4

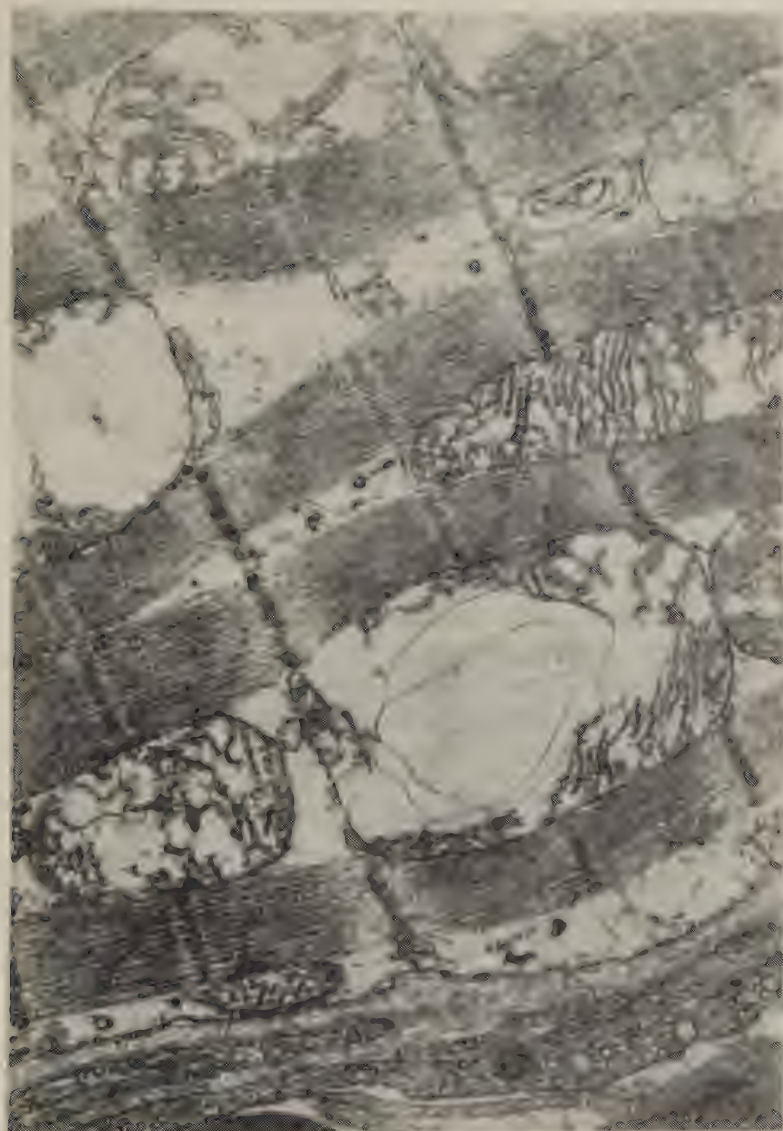


Abb. 6: Exzessive ischämische Schädigung nach 45-minütigem ischämischem Herzstillstand und einstündiger Reperusionszeit der Koronararterien (Band Nr. 20): Totaler Glycogenverlust, aufgeblähte Mitochondrien mit Myelinfiguren, nur vereinzelt noch Cristae erhalten. Die Myofibrillenstruktur ist verwaschen, auch die Kapillarendothelzellen sind geschwollen und zeigen eine Vesikelbildung (unten rechts). (Vergrößerung 12.000x, fotograf. Nachvergrößerung auf 42.000x).

Nach der einstündigen Erholung sieht man gegenüber dem Vorbefund eine deutliche Verbesserung der Ultrastruktur. Die Schädigungen haben sich weitgehend zurückgebildet. Der Glycogengehalt ist im Vergleich zum Ende der Ischämiezeit deutlich vermehrt, das interstitielle Ödem geringer, an den Mitochondrien wird bis auf einen teilweisen Verlust der intramitochondrialen Granula kein pathologischer Befund mehr erhoben. Auch die Aufhellungszonen beidseits der Z-Bänder sind nicht mehr nachweisbar.

- b) Hund Nr. 40, männlich, 2 Jahre, 35 kg, Halothan-Narkose, stabiler Kreislauf bei Versuchsende.

Auch bei diesem Versuchstier besteht aufgrund der elektronenmikroskopischen Befunde nach der 45 Minuten dauernden Ischämie nur eine minimale Schädigung mit geringgradiger Abnahme der Zytoplasmadichte und geringgradigem Glycogenverlust. Die Mitochondrien sind nur vereinzelt vakuolisiert und zeigen bis auf den Verlust der Granula keine weiteren pathologischen Befunde. Auch hier bestehen beidseits der Z-Streifen wiederum vereinzelt schmale Aufhellungszonen. Nach der Erholungsphase wird eine leichte Zunahme der Schädigungen nachgewiesen, der Glycogenverlust ist jetzt mittelgradig, das Ödem etwas stärker ausgeprägt, die Mitochondrien leicht geschwollen und geringgradig vakuolisiert.

- c) Hund Nr. 36, weiblich, 3 Jahre, 27 kg, Neurolept-Narkose, instabiler Kreislauf bei Versuchsende.

Nach 45-minütiger Ischämie wird im linksventrikulären Myokard eine geringgradige ischämische Schädigung mit mäßiger Dichte-

abnahme des Zytoplasmas der Herzmuskelzellen und hochgradigem Glycogenverlust nachgewiesen. Die Mitochondrien sind nur minimal geschwollen und leicht vakuolisiert, Granula sind nicht nachweisbar, die Cristae gering destruiert und der Matrixverlust mittelgradig.

Nach der Erholungsphase ist die Schädigung sehr viel stärker ausgeprägt als nach der Ischämie. Die Dichte des Zytoplasmas hat stark abgenommen, nur vereinzelt ist noch Glycogen nachweisbar und die Myofibrillen sind stark auseinandergedrängt. Die Mitochondrien zeigen eine ausgeprägte Schwellung und Vakuolisierung, Granula und Matrix sind verlorengegangen und die Cristae mittelgradig destruiert.

- d) Hund Nr. 33, weiblich, 12 Jahre, 28 kg, Neurolept-Narkose, Maschinenkreislauf bei Versuchsende.

Vor Beginn der Ischämie ist das linksventrikuläre Myokard bei diesem Hund völlig intakt. Nach dem Herzstillstand findet sich ein fast totaler Glycogenverlust, die Dichte des Zytoplasmas hat stark abgenommen und die Myofibrillen sind mäßig auseinandergedrängt. An den Mitochondrien werden eine Schwellung, Vakuolisierung, ein Verschwinden der intramitochondrialen Granula, ein mittelgradiger Matrixverlust und eine mittelgradige Destruktion der Cristae nachgewiesen.

Nach der Erholungsphase ist keine Besserung des Befundes zu erkennen, die Herzmuskelzellen sind im Vergleich deutlich vergrößert, einige Mitochondrien sind völlig zerstört.

- e) Hund Nr. 27, weiblich, 3 Jahre, 30,5 kg, Halothan-Narkose, Maschinenkreislauf bei Versuchsende.

Nach der 45-minütigen Ischämiephase wird im linksventrikulären Myokard eine mittelgradige Schädigung festgestellt. Der Glycogenverlust ist fast total, die Myofibrillen sind durch ein interstitielles Ödem auseinandergedrängt, die Mitochondrien geschwollen, die Cristae mitochondriales hochgradig destruiert.

Nach der Erholungsphase, in der es nicht zu geordneten Kontraktionen des Herzens kommt, findet sich eine exzessive ischämische Schädigung. Das Zytoplasma der Herzmuskelzellen ist weitgehend aufgelöst und an einigen Stellen nicht mehr nachweisbar. Die Querstreifung ist nur noch vereinzelt erkennbar, die Myofibrillen sind stark verschmälert, auseinandergedrängt und teilweise in Höhe der I-Bänder frakturiert (s. Abb. 7). Glycogengranula sind nicht auffindbar, die Mitochondrien sind erheblich geschwollen und vakuolisiert, die Cristae weitgehend destruiert. Viele Mitochondrien sind nur noch in Umrissen schattenhaft erkennbar (s. Abb. 8).

3. Induziertes Kammerflimmern

Von den 10 Hunden mit induziertem Kammerflimmern wurden nur 3 elektronenmikroskopisch untersucht, da bei allen Versuchstieren nach der einstündigen Erholungszeit ein stabiler Kreislauf bestand (siehe Tabelle 5').



Abb. 7: Exzessive ischämische Schädigung der Ultrastruktur des linksventrikulären Myokard nach 45 Minuten kardioplegischem Herzstillstand (Hund Nr. 27): Totaler Verlust der Glycogengranula, Auseinanderdrängung der Myofibrillen und der Myofilamente durch ein interstitielles Ödem, Schwellung und Destruktion der Mitochondrien. (Vergrößerung 12.000x, fotografische Nachvergrößerung auf 48.000x).



Abb. 8: Fortgeschrittene irreversible Zerstörung der Struktur des Herzmuskels nach 45-minütigem kardioplegischem Herzstillstand und einstündiger Reperfusion der Koronararterien (Hund Nr. 27): Weitgehende Destruktion der Mitochondrien, verwaschene Struktur der Mitochondrien, I- und A-Bande nicht mehr scharf abgrenzbar. (Vergrößerung 12.000x, fotografische Nachvergrößerung auf 42.000x).

Flimmern Hund Nummer	26	31	35
Phase	nili nili	vili nili nili	vire vili nire nili nere nili
Ischämiezeit, Narkoseart	45 H	30 N	45 N
Kreislauf zu Versuchsende	+	+	+
Glykogenverlust	+	0	0
Verlust der intramitochondrialen Granula	ja ja	0 ja ja	0 0 ja ja ja ja
Schwellung	+	0	0
Vakuolisierung	+	+	+
Matrixverlust	+	0	0
Destruktion der Cristae	0	0	0
Interstitielles Ödem	+	+	+
Myofibrillenstruktur	0	+	0
Myokardschädigung	+	+	+

Tabelle 5

- a) Hund Nr. 26, weiblich, 3 Jahre, 29 kg,
Halothan-Narkose.

Nach 45-minütigem induziertem Kammerflimmern läßt sich elektronenmikroskopisch nur eine geringgradige Veränderung der Ultrastruktur des linksventrikulären Myokard nachweisen. Die Myofibrillen sind durch ein geringgradiges interstitielles Ödem wenig auseinandergedrängt, auch der Glycogenverlust ist nur geringgradig. Die Mitochondrien sind weitgehend gut erhalten, nur vereinzelt sieht man eine minimale Schwellung und Vakuolisierung, die intramitochondrialen Granula sind verschwunden, der Matrixverlust aber nur geringgradig und die Cristae gut erhalten (s. Abb. 9).

Nach der 60-minütigen Erholungsphase sieht man in den Mitochondrien nur noch ganz vereinzelt Vakuolen, die Cristae sind intakt, der Matrixverlust geringgradig. Der Gehalt an Glycogengranula entspricht dem eines ungeschädigten Herzmuskels (s. Abb. 10), das interstitielle Ödem hat sich zurückgebildet.

- b) Hund Nr. 31, männlich, 3 Jahre, 30 kg,
Neurolept-Narkose.

Die Ultrastruktur des Myokard aus der Vorderwand des linken Ventrikels ist vor dem induzierten Kammerflimmern völlig intakt. Nach 30 Minuten Kammerflimmern besteht ein geringgradiges interstitielles Ödem, auch der Glycogenverlust ist nur geringgradig. An den Mitochondrien zeigt sich neben dem Verlust der Granula nur ganz vereinzelt eine Vakuolisierung. Die Vesikel der Kapillarendothelien sind deutlich vermehrt und teilweise leicht vakuolisiert. Die Myofibrillen zeigen eine minimale ödematöse Schwellung, durch die die



Abb. 9: Linksventrikuläres Myokard nach 45 Minuten induziertem Kammerflimmern (Hund Nr. 26): Regelrechte Struktur der Myofibrillen, reichlich Glycogengranula, nur geringgradige Vakuolisierung der relativ gut erhaltenen Mitochondrien. (Vergr. 8000x, Fotogr. Nachvergrößerung 44.000x).



Abb. 10: Nach der einstündigen Erbelungsphase (Hind Nr. 26) geringgradige Vakuolisierung der Mitochondrien, im sarkoplasmatischen Retikulum reichlich Glykogengranula, Myofibrillen durch ein geringgradiges interstitielles Odem leicht auseinandergedrängt. (Vergr. 8000x, fotogr. Nachvergr. 32.000x).

Filamente leicht auseinandergedrängt wurden. In unmittelbarer Nachbarschaft eines Glanzstreifens finden sich Kontraktionsbänder. Nach der Erholungsphase läßt sich kein interstitielles Ödem mehr nachweisen, auch die Dichte der Glycogengranula entspricht der Norm. Die intramitochondrialen Granula sind weiterhin nicht nachweisbar, vereinzelt sieht man noch Vakuolen. Auch die Verdichtungszone in der Nachbarschaft der Glanzstreifen sind noch vereinzelt vorhanden.

- c) Hund Nr. 35, weiblich, 3 Jahre, 28 kg, Neuroleptnarkose.

Bei diesem Versuchstier wurden die Excisionen aus dem linken und rechten Ventrikel vor und nach Kammerflimmern und nach der Erholungszeit untersucht. Vor dem induzierten Flimmern waren sowohl im rechts- wie im linksventrikulären Myokard keine Veränderungen nachweisbar.

Nach der 45-minütigen Flimmerperiode zeigt sich im rechtsventrikulären Herzmuskel nur eine geringfügige, im linksventrikulären Myokard dagegen eine mittelgradige ischämische Schädigung. Rechts sieht man neben einem mittelgradigen Glycogenverlust eine geringgradige Schwellung der Mitochondrien mit Verlust der intramitochondrialen Granula und leichtem Matrixverlust sowie eine geringe Destruktion der Cristae (s. Abb. 11). In der Muskulatur des linken Ventrikels sind die Myofibrillen durch ein interstitielles Ödem mäßig auseinandergedrängt, der Glycogenverlust ist ebenfalls mittelgradig, die Strukturen der Mitochondrien sind im Vergleich zum rechtsventrikulären Myokard jedoch stärker geschädigt (s. Abb. 12).



Abb. 11: Nach 45-minütigem induziertem Kammerflimmern im rechtsventrikulären Myokard (Hund Nr. 35) mittelgradiger Verlust der Glycogengranula, geringgradiges interstitielles Ödem, Schwellung des endoplasmatischen Retikulums und geringgradige Vakuolisierung der Mitochondrien. (Vergrößerung 8000x, fotografische Nachvergrößerung auf 32.000x).



Abb. 12: Das linksventrikuläre Myokard ist nach 45 Minuten induziertem Kammerflimmern stärker geschädigt als das rechtsventrikuläre (Hund Nr. 35): Die Schwellung, Vakuolisierung und Cristolyse der Mitochondrien ist ausgeprägter, auch das interstitielle Ödem ist stärker. (Vergrößerung 8000x, Positiv 28.000x).

Nach Defibrillation und einstündiger Erholungsphase war der elektronenmikroskopische Befund kaum noch von dem eines nicht ischämisch geschädigten Myokard unterscheidbar. In der Muskulatur beider Ventrikel besteht nur noch ein mittelgradiger Glycogenverlust, ein geringgradiges interstitielles Ödem und eine Erweiterung der T-Tubuli. Die Mitochondrien sind überwiegend regelrecht strukturiert, nur die intramitochondrialen Granula waren nicht nachweisbar (s. Abb. 13).

III. Zusammenfassung der elektronenmikroskopischen Befunde

1. Normothermer Herzstillstand

Die zwei untersuchten Hunde mit stabilem Kreislauf zu Versuchsende zeigen unterschiedlich ausgeprägte ultrastrukturelle Veränderungen des linksventrikulären Myokard nach der Ischämie und nach der 60-minütigen Erholungsphase. Während bei dem Hund Nr. 25 eine hochgradige Myokardschädigung mit ausgeprägtem Glycogenverlust und starken ischämischen Alterationen der Mitochondrien und ein mittelgradiges interstitielles Ödem gefunden wird, ist die Myokardschädigung des Hundes Nr. 32 nur mittelgradig. Bei diesem Versuchstier ist der Verlust der Glycogengranula zwar ebenfalls hochgradig, die Veränderungen der Mitochondrien waren aber bis auf einen ausgeprägten Matrixverlust nur geringgradig. Während sich das elektronenmikroskopische Bild nach der Erholungszeit beim Hund Nr. 25 wesent-



Abb. 13: Nur noch geringgradige ischämische Schädigung nach 45 Minuten Kammerflimmern und 60 Minuten Erholungszeit (Hund Nr. 35): Im linksventrikulären Myokard mittelgradiger Glycogenverlust, geringgradiges interstitielles ödem und erweiterte T-tubuli, die Mitochondrien sind weitgehend gut erhalten. (Vergrößerung 12.000x, fotografische Nachvergrößerung 42.000x).

lich bessert, sind die Veränderungen des Myokard beim Hund Nr. 32 trotz der 60-minütigen Wiederdurchblutung des Herzens jetzt stark ausgeprägt (s. Tab.). Beim Hund Nr. 35 ist es durch die Wiederdurchblutung zur Reduktion der untersuchten Parameter der ischämischen Schädigung um ein bis zwei Schweregrade gekommen, beim Hund Nr. 32 haben die Schädigungen dagegen um ein bis zwei Schweregrade zugenommen. Beide Hunde waren etwa gleich alt und gleich schwer, bei Hund Nr. 25 wurde eine Halothan-, bei Hund Nr. 32 eine Neurolept-Narkose durchgeführt.

Das Versuchstier mit instabilem Kreislauf bei Versuchsende (Hund Nr. 38) weist schon nach 45 Minuten Ischämiezeit im linksventrikulären Myokard eine überwiegend ausgeprägte ischämische Schädigung auf. Nach der Erholungsphase kommt es zu einer weiteren Verschlechterung des elektronenmikroskopischen Bildes mit hochgradigen Mitochondrienveränderungen, ausgeprägtem interstitiellem Ödem und fast totalem Glycogenverlust (s. Tab.3).

Das Versuchstier, bei dem in der Erholungsphase keine geordneten Kontraktionen des Herzens zu erreichen waren, zeigt nach Ischämie eine durchweg ausgeprägte ischämische Schädigung der Ultrastruktur des Myokard. In der Phase der einstündigen Wiederdurchblutung des Herzmuskels kam es nicht zur Restitution der elektronenmikroskopisch nachgewiesenen schweren Schäden, im Gegenteil: jetzt ergibt sich der Befund einer schwersten Zerstörung der Ultrastruktur des Herzmuskels (s. Abb. 3-6 und Tab.3).

2. Kardioplegischer Herzstillstand

Trotz 45-minütiger Ischämie nach Injektion einer kardioplegischen Lösung in die Koronararterien werden im linksventrikulären Myokard der beiden Hunde (Nr. 24 und 40), bei denen zu Versuchsende ein stabiler Kreislauf bestand, nur wenig vom Normbefund abweichende Strukturveränderungen gefunden. Beim Hund Nr. 24 sind diese Veränderungen teilweise zwar mittelgradig, bilden sich aber in der Erholungsphase fast vollständig zurück. Beim Hund Nr. 40 sind die Mitochondrien in beiden Phasen sehr gut erhalten, in der Erholungsphase nimmt die Dichte der Glycogengranula etwas ab, das interstitielle Ödem wird mittelgradig. Beim Hund Nr. 36 konnte nur ein instabiler Kreislauf erreicht werden. Hier zeigt sich nach 45 Minuten Ischämie ein ausgeprägter Verlust der Glycogengranula, die Mitochondrien sind dagegen nur überwiegend geringgradig geschädigt. Nach der Erholungsphase ist der Glycogenverlust fast total, die Myofibrillen sind durch ein interstitielles Ödem erheblich auseinandergedrängt und die Mitochondrien größtenteils hochgradig geschädigt. Bei den Versuchstieren Nr. 33 und 27, deren Kreislauf nur mit Hilfe der Herz-Lungen-Maschine aufrechterhalten werden konnte, ist der Glycogenverlust schon am Ende der Ischämiephase fast total, das interstitielle Ödem hochgradig. Die ischämischen Veränderungen der Mitochondrien sind beim Hund Nr. 33 nur mittelgradig, nach der Erholungsphase sieht man in diesen Zellorganellen bis auf eine Zunahme der Vakuolisierung keine Befundänderung. Beim Hund Nr. 27 ergibt sich zu Versuchsende eine weitgehende Zerstörung der Ultrastruktur des linksventrikulären Myokard (s. Abb. 7 und 8 und Tab. 4).

3. Induziertes Kammerflimmern

Die aus dieser Gruppe untersuchten Herzmuskelbiopsien von 3 Hunden sind fast ausnahmeslos nur geringgradig geschädigt. Beim Hund Nr. 26 und beim Hund Nr. 30 ist keiner der untersuchten Parameter nach Ende der Flimmerzeit mehr als geringgradig verändert, in der Erholungsphase kommt es vielfach zu Befunden, die von einem nichtischämischen Herzmuskel kaum noch zu unterscheiden sind. (Siehe Abb. 9 und 10, Tab. 5).

Nur beim Versuchstier Nr. 35 werden in der Biopsie aus dem linksventrikulären Myokard nach 45-minütiger Ischämie mittelgradige Schädigungen gesehen, die sich aber in der Erholungsphase weitgehend zurückbilden. Das bei diesem Hund ebenfalls untersuchte rechtsventrikuläre Myokard zeigt nach der Ischämie und nach der Erholungsphase geringgradige Veränderungen der Mitochondrien, einen mittelgradigen Glycogenverlust und ein geringgradiges interstitielles Ödem. Die Schädigungen der Muskulatur des rechten Ventrikels sind nach der Ischämie nicht so stark ausgeprägt wie die der Herzmuskulatur aus der linken Kammerwand, dafür zeigt sich jedoch im Vergleich zu links keine Rückbildungstendenz (s. Abb. 11-13 und Tab. 5).

IV. Vergleichende Beurteilung der elektronen- mikroskopischen Myokardveränderungen in den drei Herzstillstands-Gruppen

Vergleicht man den Grad und den Verlauf der Veränderungen des Glycogengehalts, der Mitochondrien-Strukturalteration und des interstitiellen Ödems in den drei verschiedenen Herzstillstands-Gruppen, so ergeben sich folgende Befunde:

1. Hunde mit stabilem Kreislauf bei Versuchsende

Der Glycogenverlust ist in der Gruppe des normothermen Herzstillstands am ausgeprägtesten, erreicht in der Kardioplegie-Gruppe mittelgradige Werte und ist in der Kammerflimmer-Gruppe mit einer Ausnahme nur geringgradig. Diese Tendenz ist auch hinsichtlich der Schädigung der Mitochondrien und des Grads des interstitiellen Ödems erkennbar; die Ischämiegruppe liegt hier immer an der Spitze der graduellen Schädigung, in den anderen beiden Gruppen kommt es zu Überschneidungen (s. Abb. 14).

2. Hunde mit instabilem Kreislauf bei Versuchsende

Hier kann nur je ein Hund aus der Ischämie- und aus der Kardioplegie-Gruppe verglichen werden. Ein klarer unterschiedlicher Trend des Verlaufs der Schädigungen und des Grads der Ultrastrukturveränderungen ist nicht erkennbar (s. Abb. 14).

3. Hunde mit Maschinen-Kreislauf bei Versuchsende

Auch hier ist die Anzahl der untersuchten Tiere zu klein, um exakte vergleichende Aussagen machen zu können. Es wurden nur 2 Hunde nach Kardioplegie

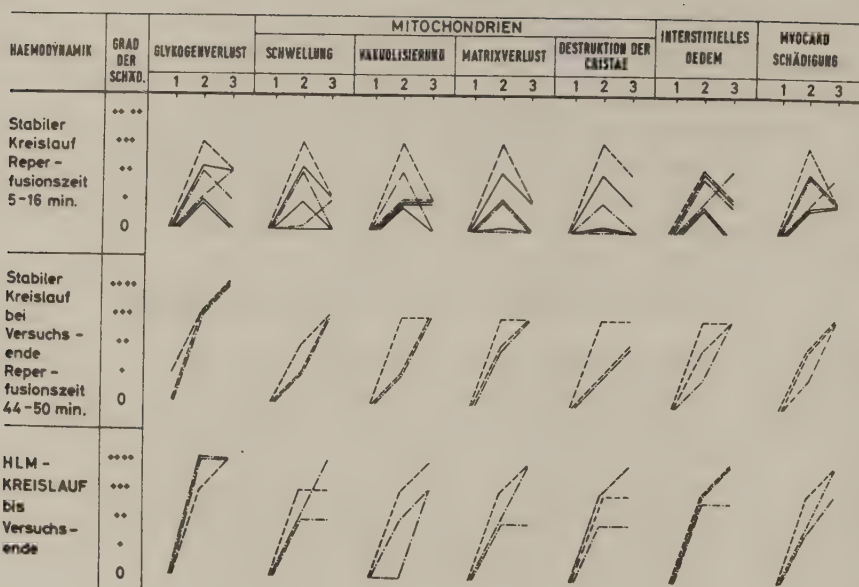


Abb. 14: Graphische Zusammenfassung der elektronenmikroskopischen Befunde in Abhängigkeit von der gewählten Herzstillstandsform und gruppiert nach dem haemodynamischen Ergebnis des Versuches. Nach induziertem Kammerflimmern (durchgehende Linie) wird das Myokard vergleichsweise am geringsten geschädigt. In Analogie zur Funktionsverbesserung zeigt sich auch eine Rückbildungstendenz dieser Befunde in der Erholungsphase. Abweichend von den funktionellen Ergebnissen war das Myokard nach kardioplegischem Herzstillstand (Strich-Punkt-Linie) besser erhalten als nach ischämischer Herzstilllegung (gestrichelte Linie). ; = vor Herzstillstand; 2 = nach Herzstillstand; 3 = nach Erholungsphase.

und einer nach normothermer Ischämie untersucht. Es fällt auf, daß die Schädigung der Mitochondrien beim Hund nach ischämischem Herzstillstand etwas ausgeprägter ist als bei den beiden Kardioplegie-Versuchstieren. (S. Abb. 14).

Mit allen Vorbehalten, die für die angewandte semi-quantitative Beurteilung der strukturellen Herzmuskelschädigung zu machen sind, scheint doch eine gute Übereinstimmung zwischen funktionellen und morphologischen Parametern insofern vorzuliegen, als die Flimmer-Gruppe in Analogie zu den guten funktionellen Resultaten die geringsten Schädigungszeichen im Myokard aufweist und andererseits die fehlende Rückbildungstendenz der morphologischen Schädigungszeichen der fehlenden Verbesserung der Funktion während der Erholungsphase entspricht.

D i s k u s s i o n

Um ein Herz nach induziertem Stillstand - gleich welcher Art - wiederbeleben zu können - muß der Basis-Stoffwechsel strukturerhaltend sein. Mit der anaeroben Glycolyse während des ischämischen Stillstands läßt sich aber beim Warmblüterherzen ein Gleichgewicht zwischen Stoffwechsel und Strukturerhaltung nicht erreichen (WOLLENBERGER et al. 1970). Glycogen, Kreatin- und Adenosintriphosphat werden kontinuierlich abgebaut, beim Unterschreiten von Grenzkonzentrationen ist das Herz nicht mehr wiederzubeleben (KÜBLER 1967, 1969, KNOLL et al. 1974, STADELMANN et al. 1968).

Die Wiederbelebungszeit ist abhängig von der Dauer des Herzstillstands und von der Ausgangskonzentration und Abbaugeschwindigkeit der energieliefernden Substrate. Deshalb wurde vielfach versucht, durch Vergrößerung der Energiereserven und Verminderung des Energiebedarfs die Wiederbelebungszeit zu verlängern. Die energetische Ausgangslage soll durch kombinierte Gaben von Glycogen oder Glucose mit Insulin verbessert werden (CONN et al. 1959, ISSELMANN et al. 1964, AUSTEN et al. 1965). Eine positive Wirkung auf die Konzentration an energiereichen Phosphaten wurde auch nach Gabe von Persantin^R (HÖLSCHER 1965), Segontin^R (BENDA et al. 1964) und Magnesium-Novocamid (GÜNTHER und HÖLSCHER 1963) beobachtet. Auch die direkte Injektion von Adenosintriphosphat in die Kranzarterie wurde beschrieben (KRAUSE et al. 1967, 1968). Bei all diesen Verfahren ist aber zu berücksichtigen, daß beispielsweise die Glycogenreserven kein limitierender Faktor für die Wiederbelebungszeit sind, der untere ATP-Grenzwert für einen strukturerhaltenden Basisumsatz wird erreicht, bevor das normale Glycogendepot erschöpft

ist (HOFFMEISTER et al. 1959).

Dem Prinzip der Erhöhung der Energiereserven steht das der Verminderung des Energiebedarfs an der Seite. Dies gelingt durch eine rasche Aufhebung der Funktion des Herzmuskels, durch Membranstabilisierung und Hypothermie. Durch die Hypothermie wird der Ablauf der biochemischen Reaktion gebremst und damit der Abfall der energiereichen Phosphate verlangsamt. Die Ultrastruktur ist je nach Grad der Unterkühlung auch nach langen Ischämiezeiten erstaunlich gut erhalten (ALBERT et al. 1961, BJÖRCK und HULTQUIST 1967, HÖLSCHER et al. 1961, KOTTMEIER und WHEAT 1966, WEDELL et al. 1965, BURDETTE und ASHFORD 1963).

Wir haben die Auswirkungen unterschiedlicher Formen des normothermen Herzstillstandes unter extrakorporaler Zirkulation auf Funktion und Feinstruktur des Myokard vergleichend untersucht. Die HÜBNER'sche Forderung nach stoffwechselgerechter Fixierung des Myokard durch Perfusion mit Glutaraldehyd (1971), um zwischen Entnahme und Fixation unkontrollierbare metabolisch induzierte Feinstrukturalterationen zu vermeiden, konnte nicht erfüllt werden. Die Gründe hierfür liegen einmal in der Versuchsanordnung (Mehrfachexcisionen vor und nach Ischämie und nach Erholung), und zum anderen wurden gleichzeitig Gewebeproben für Untersuchungen des myokardialen Elektrolytgehaltes entnommen (BRANDT et al. 1974). Ein methodischer Fehler wurde jedoch dadurch weitgehend ausgeschlossen, daß die Excisionen immer vom gleichen Untersucher sofort in Glutaraldehyd bearbeitet und fixiert wurden.

1. Ischämischer Herzstillstand

Bei dieser Form des Herzstillstands wird die koronare Durchblutung durch Abklemmen der Aorta ascendens gestoppt. Nach Ischämiebeginn lassen sich Kontraktionen noch 5 Minuten lang und elektrische Aktionspotentiale von bis zu 20 Minuten Dauer nachweisen (TYERS 1974). Ein ischämischer Herzstillstand von 30 Minuten Dauer schädigt die Funktion des Herzmuskels nicht oder nur geringgradig (BUJA et al. 1971, ENRIGHT et al. 1970). Ein 45-minütiger ischämischer normothermer Herzstillstand beeinträchtigt dagegen die linksventrikuläre Funktion deutlich (SARIN et al. 1968).

Die von uns untersuchten Hunde mit 30-minütiger normothermer Ischämie hatten überwiegend einen stabilen Kreislauf bei Versuchsende, während nach 45-minütigem Stillstand in 4 von 6 Fällen kein suffizienter Kreislauf zu erzielen war. Die elektronenmikroskopischen Befunde der linksventrikulären Biopsien von 4 Versuchstieren nach 45 Minuten Ischämie ergaben bei 2 Hunden mit stabilem Kreislauf unterschiedlich stark ausgeprägte ischämische Schädigungen und eine unterschiedliche Reversibilität dieser Läsionen in der Erholungsphase. Während sich bei einem Tier die hochgradigen Alterationen wesentlich zurückbildeten, kam es bei dem anderen Hund mit nur mittelgradiger Schädigung nach der Wiederdurchblutung zu einer Verstärkung der ischämischen Schäden. Eine Verlegung der Kapillaren durch Endothelzellschwellung (POCHE et al. 1967), die diesen Befund erklären könnten, fanden wir jedoch nicht. Bei den anderen beiden Tieren deuten schon die schweren Schädigungen der Mitochondrien, das ausgeprägte interstitielle Ödem

und der fast totale Glycogenverlust nach der Ischämiephase auf die Irreversibilität dieser Alterationen hin. Nach der Erholungsphase kam es dann auch zu einer weiteren Progression der Schädigungen bis hin zu schwersten Zerstörungen der Ultrastruktur.

Unsere Befunde decken sich weitgehend mit den Untersuchungen von BUJA und Mitarb. (1971), die ebenfalls starke strukturelle, teilweise irreversible Veränderungen nach 45-minütigem normothermen ischämischen Herzstillstand bei Hunden fanden, während sie die Veränderungen nach 30-minütiger normothermer Ischämie als geringgradig klassifizierten. Qualitativ entsprechen die Befunde den Ergebnissen von POCHE und OHM (1963) und HÜBNER (1971). In allen Fällen wurde ein Verlust der Mitochondriengranula gefunden. Nach POCHE und OHM (1963) sind dies die am frühesten, schon nach 5 Minuten auftretenden Veränderungen bei normothermer Ischämie. Nach 5-10 Minuten kommt es zu einem merklichen Glycogenverlust und zu einer mitochondrialen Schwellung. Das interstitielle Ödem fanden wir schon nach der Ischämiephase und nicht erst nach der Wiederdurchblutung (LAPP und AMTHOR 1974). Diese Differenz ist aber durch die unterschiedliche Versuchsanordnung erklärt. LAPP und AMTHOR (1974) untersuchten den zeitlichen Ablauf der ultrastrukturellen Veränderungen infolge der Wiederdurchblutung nach 10 Minuten Ischämie durch die Unterbindung des absteigenden Astes der linken Kranzarterie bei Ratten. Sie zeigten, daß sich in 60-minütiger Wiederdurchblutung eine Restitution der Herzmuskelzelle und ihre Entwässerung vollzieht. In der Folgezeit kam es zu gesteigerter Proteinsynthese, Einlagerung von Glycogengranula und numerischer Hyperplasie der Mitochondrien.

2. Kardioplegischer Herzstillstand

Die Lähmung des Herzmuskels ist durch verschiedene Substanzen möglich. Nach Injektion von 2,5 %iger Kalium-Citrat-Lösung in die Koronararterien fanden LÖHR (1959) und LÖHR et al. (1960) bei Hunden nach 30-35-minütiger Ischämie keine Veränderungen der Ultrastruktur. Die Autoren wiesen jedoch bereits 1960 auf eine mögliche Schädigung durch Bindungen der zweiwertigen Metallionen an das Citrat hin. In den folgenden Jahren fand die Arbeitsgruppe um MEESSEN teils anhand von Tierversuchen, teils im Obduktionsgut heraus, daß nach Kaliumcitrat-Kardioplegie häufig ein interstitielles Ödem, Haemorrhagien, hyaline Querbänder und Muskelnekrosen auftreten können (POCHE und OHM 1963, MEESSEN 1963, 1964, 1968, POCHE et al. 1967). Diese Nekrosen wurden auch von MILLER et al. (1961, 1965) nachgewiesen. HÖLSCHER et al. (1961) fanden nach Injektion von Kaliumcitrat oder Natriumcitrat zwar unveränderte Mitochondrien, das sarkoplasmatische Retikulum war jedoch erweitert, und zwischen den Myofibrillen fanden sich große Vakuolen. 1966 wies HÖLSCHER außerdem auf die membranzerstörende Wirkung des Kaliumcitrats hin. HÜBNER (1971) betont, daß Citrat Calciumionen bindet und die Herzen deshalb kaum reanimierbar sind. Bessere Ergebnisse wurden in der Arbeitsgruppe um HÜBNER durch die Kombination der von BRETSCHNEIDER entwickelten Kardioplegielösung mit Hypothermie erzielt (PAULUSSEN et al. 1968, HÜBNER 1971). Die biochemische Untersuchung dieser Kardioplegieform brachte im Vergleich zu anderen Kardioplegielösungen die besten Ergebnisse (KNOLL et al. 1971).

Kalium- und Magnesiumionen führen zu einem raschen Erlöschen der elektrischen und mechanischen Aktivität des Herzmuskels. Magnesiumionen hemmen

darüberhinaus die Membran-ATPasen und das ATPase-wirksame Myosin, führen also zu einer Verlangsamung des ATP-Abfalls und damit zu einer Verlängerung der Ischämietoleranz (KIRSCH 1970). Lokal-anästhetika wie Novocain oder Procain haben ebenfalls membranstabilisierende und ATPase-hemmende Eigenschaften (BRETSCHNEIDER 1964, ALTHAUS und SENN 1971, KIRSCH 1970, FLECKENSTEIN 1963). Durch Gaben von Mannit oder Sorbit wird extrazelluläres Natrium entzogen und so ebenfalls die Membran stabilisiert (DRAPER und WEIDMANN 1951).

Durch unterschiedliche Kombinationen dieser Substanzen sowie durch Zugabe von Beta-Rezeptoren-Blockern und Hypothermie entwickelte die BRETSCHNEIDER'sche Arbeitsgruppe zahlreiche Kardioplegie-Modifikationen, die eine Verlängerung der Wiederbelebungszeit bis auf 5 Stunden bewirken sollen. Tierexperimentell ermittelte Toleranzzeiten haben einer Prüfung unter klinischen Bedingungen jedoch nicht standgehalten (NORDBECK et al. 1974). Außerdem ist die Methode zu aufwendig und zu zeitraubend. Deshalb haben wir die von KIRSCH entwickelte kardioplegische Lösung, die nach Abklemmen der Aorta in die Aortenwurzel injiziert wird, benutzt. Die Anwendung dieser Lösung zögert im Tierexperiment den Kontrakturbeginn des Meerschweinchen-Myokard von durchschnittlich 24,5 auf 51,8 Minuten hinaus (KIRSCH et al. 1972). Erste klinische Erfahrungen mit dieser Methode scheinen die experimentellen Befunde zu bestätigen (NASSERI et al. 1973, KALMAR et al. 1973).

Elektronenmikroskopische Untersuchungen nach kardioplegischem Herzstillstand zeigten am Meerschweinchen-Herzen bei Ischämiezeiten um 50 Minuten nach einstündiger Reperfusion alle Übergänge von

normaler Ultrastruktur bis zu erheblichen Veränderungen mit Glycogenschwund, Mitochondrienschwellung, Cristolyse und rupturierten Myofilamenten (KIRSCH et al. 1972). Die während menschlicher Herzoperationen gewonnenen Biopsien von der Spitze des linken Ventrikels zeigten nach 40 Minuten Ischämie weitgehend reversible Veränderungen, nach Ischämiezeiten von mehr als 50 Minuten fanden sich jedoch ausgeprägtere Schädigungen (MULCH et al. 1974). Die demgegenüber sehr guten Ergebnisse der elektronenmikroskopischen Untersuchungen von NASSERI et al. (1973) sind wohl auf den ungewöhnlichen Entnahmeort des Myokard aus den subepikardialen Schichten der rechten Kammer zurückzuführen. Dieser Bezirk ist gegenüber ischämischen Schädigungen relativ unempfindlich.

In unserer Versuchsreihe ergab die Applikation der kardioplegischen Lösung im Vergleich zur alleinigen normothermen Ischämie weder wesentliche haemodynamische noch ultrastrukturelle Unterschiede. 5 von 10 Hunden hatten nach Ablauf der Erholungsphase einen stabilen Kreislauf, in einem Fall war die Haemodynamik instabil und bei 4 Versuchstieren war ein Maschinenkreislauf bis zum Versuchsende erforderlich. Für die elektronenmikroskopischen Untersuchungen wurden linksventrikuläre Biopsien von 5 Hunden herangezogen. 2 Tiere mit stabilem Kreislauf bei Versuchsende zeigten nach 45 Minuten Ischämie und Kardioplegie nur geringgradige Strukturveränderungen. In einem Fall bildeten sich diese in der Erholungsphase fast völlig zurück, bei dem anderen Tier nahm die Dichte der Glycogengranula in der Wiederdurchblutungszeit noch etwas ab und das interstitielle Ödem geringgradig zu. Auch bei den Versuchstieren

mit instabilem Kreislauf bei Versuchsende wurde in der Erholungsphase eine zunehmende Verschlechterung der Feinstruktur registriert. Bei den Tieren mit Maschinenkreislauf zu Versuchsende kam es in der Erholungsphase zu einer Progression der Strukturschädigung.

3. Induziertes Kammerflimmern

Beim induzierten Kammerflimmern wird die Aorta nicht abgeklemmt, die Koronarperfusion bleibt also erhalten, durch das Flimmern kommt es aber nicht zu Kontraktionen des Herzmuskels, so daß Eingriffe am offenen Herzen möglich sind. Die Methode setzt jedoch eine schlußfähige Aortenklappe voraus. Die Koronarperfusion beim nichtschlagenden Herzen hat jedoch einen Nachteil: der intramyokardiale Druck ist stets geringer als der Perfusionsdruck. Dadurch kommt es mit zunehmender Dauer des Flimmerns zu einer zunehmenden Filtration von Flüssigkeit aus den Kapillaren in das Gewebe, die zu einem interstitiellen Ödem mit folgender Erhöhung des Koronargeßwiderstandes durch Kompression der Kapillaren führt (SENNING 1967). Nach einer Stunde Flimmern sind Gewichtszunahmen des Herzens bis zu 50 % beobachtet worden (WERNET et al. 1969). Das Ödem wird zunächst subendokardial ausgebildet, führt zu einer Perfusionsstörung und somit zu ischämischen Nekrosen (ENGELMAN et al. 1975). Deshalb sollte das Flimmern nicht länger als 60 Minuten dauern und die Herzventrikel mit Hilfe von Absaugungen dekomprimiert werden. Auch das kontinuierliche Zwangsflimmern mit fortwährender externer Reizung des Myokard bringt einen deutlichen Anstieg des Koronarwiderstands und damit

schlechtere haemodynamische Ergebnisse als das spontane Flimmern (REIS et al. 1967).

Deshalb haben wir unsere Untersuchungen am dekomprimierten, spontan flimmernden Herzen durchgeführt. Flimmerperioden bis zu 45 Minuten Dauer hatten in unserer Versuchsserie keine Einschränkung der funktionellen Leistungsfähigkeit des Myokard zur Folge. Die Ultrastruktur des Herzmuskels war nur gering- bis mittelgradig geschädigt, während der 60-minütigen Erholungsphase ergab sich eine deutliche Rückbildungstendenz dieser Läsionen.

STONEY et al. (1962) untersuchten des Einfluß des induzierten Kammerflimmerns mit und ohne Koronarperfusion auf den Myokardstoffwechsel und die Herzventrikelfunktion. Sie kamen zu dem Ergebnis, daß das flimmernde Herz durch die Perfusion vor schwerwiegenden Stoffwechselstörungen geschützt wird. Lichtmikroskopisch fand man nach Kammerflimmern subepi- und subendokardial einen Verlust der Querstreifung und eine Anhäufung von anisotropem Material (SEMENOVA et al. 1968).

III. Elektronenmikroskopie der ischämischen Myokardschäden

Mit der Transmissions-Elektronenmikroskopie läßt sich eine Schädigung des Myokard früher als mit lichtmikroskopischen Methoden erfassen. Auch Aussagen über die Reversibilität oder Irreversibilität der Strukturveränderungen sind in begrenztem Umfange möglich. Die Mitochondrienschwellung, das interstitielle Ödem und die Erweiterung des sarkoplasmatischen Retikulums können zurückgebildet werden. Eine starke Schädigung des Kerns, die Zerstörung der Mitochondrien, des Sarkolemm und der Myofibrillen sprechen für eine irreversible Läsion,

für einen "Partialtod der Zelle" (HECHT 1970).

Die elektronenmikroskopisch nachweisbaren Strukturalterationen haben jedoch vielfach keinen spezifischen Charakter in Abhängigkeit von der schädigenden Ursache. Allerdings ist bekannt, daß Sauerstoffmangel und Durchblutungsstörungen des Myokard primär den Energiestoffwechsel stören und deshalb die frühesten Schädigungen in den Mitochondrien auftreten und der Gehalt an Glycogengranula abnimmt (HÜBNER 1971, HECHT 1970).

Kontraktionsstreifen werden gehäuft nach haemorrhagischem Schock, Kaliummangel und im Randgebiet von Infarkten beschrieben und auf Katecholamin-Wirkung zurückgeführt (ENTMAN 1967, HECHT 1969). T-Systemveränderungen wurden mit Störungen der elektromechanischen Kopplung in Zusammenhang gebracht (POCHE 1958, WOLLENBERGER 1963, GIRARDIER 1965).

Tierexperimentelle Studien über elektronenmikroskopisch nachweisbare Schädigungen des Myokard unter verschiedenen Versuchsbedingungen liegen in großer Anzahl vor.

Die Auswirkungen des Sauerstoffmangels in der Atemluft wurden in Unterdruckversuchen (MÖLBERT 1957, HAUSAMEN und POCHE 1965), nach temporärer Asphyxie (VOGELL et al. 1964) und wiederholter oder chronischer Hypoxie (HASPER 1965, SULKIN und SULKIN 1965, 1967, BÜCHNER und ONISHI 1967, 1968) untersucht. Bei diesen Versuchen wurden in Abhängigkeit von den vorgegebenen Bedingungen die ausgeprägtesten Veränderungen in erster Linie an den Mitochondrien (Verlust der Granula, Schwellung, Cristolyse) beobachtet und ein ausgeprägter Verlust der Glycogengranula registriert. Diese Läsionen gingen mit dem ATP-Schwund parallel (VOGELL 1964). Außerdem fanden sich Schwellungen der Kapillarendothelzellen mit

Einengung und sogar Verschuß des Lumens (POCHE 1969). Deshalb führen POCHE et al. (1967) einen Teil der unter hypoxischen Bedingungen gesehenen Befunde auf die durch Kapillarverschlüsse bedingte lokale Ischämie zurück.

Auch die Aderlaßanämie (ONISHI 1967) und die Kohlenmonoxydvergiftung (KORB und DAVID 1962) sowie die toxische Hemmung des Zellstoffwechsels (BECKER und FREY 1953, BÜCHNER et al. 1959) setzen die ersten Strukturalterationen in den Mitochondrien. Nach kardiopulmonalem Bypass und normothermer Ischämie bei Herzoperationen fanden BITTAR et al. (1974) bei 20 Patienten elektronenmikroskopisch neben mitochondrialen Schädigungen und Glycogenverlust auch ein intrazelluläres Ödem.

Nach unseren Befunden eignen sich die mitochondrialen Schädigungen und der Grad des Glycogenverlusts am besten zur morphologischen Beurteilung ischämischer Herzmuskelschäden. Wir haben zwar auch ein interstitielles Ödem beobachtet, dessen Beurteilung ist aber schwieriger als die subjektive Graduierung der Mitochondrien-Läsionen und des Glycogenverlusts. Der Grad der elektronenmikroskopisch gesehenen Schädigung stimmte sehr gut mit den haemodynamisch ermittelten Herz-Kreislauf-Funktionsparametern überein. Aus elektronenmikroskopischen Untersuchungen verschiedener Herzstillstandsformen lassen sich deshalb unserer Meinung nach gute Rückschlüsse auf die Funktion des Herzmuskels ziehen und damit das Herzstillstandsverfahren beurteilen. Dies gilt allerdings nur mit einer Einschränkung: es dürfen keine prä-existenten disseminierten Herzmuskelschäden vorliegen, so daß die Biopsie nicht repräsentativ sein kann. Bei Versuchstieren läßt sich diese Gefahr aber weitgehend ausschließen. Wegen der in den verschiedenen Ventrikelwandschichten unterschiedlichen

Temperatur und der unterschiedlichen Blutverteilung sollte darauf geachtet werden, daß die durch eine Ischämie besonders gefährdeten subendokardialen Partien untersucht werden.

IV. Schlußfolgerungen

Aus den vergleichenden funktionellen und elektronenmikroskopischen Untersuchungen der drei Herzstillstandsformen

- ischämischer Herzstillstand
- kardioplegischer Herzstillstand und
- induziertes Kammerflimmern

geht hervor, daß

- nach 30 Minuten normothermer Ischämie der Herzmuskel in Funktion und Struktur kaum beeinträchtigt wird,
- nach 45 Minuten normothermer Ischämie - gleichgültig ob mit oder ohne Kardioplegie - die Funktionsparameter verschlechtert werden und die ultrastrukturelle Untersuchung teils reversible, teils irreversible Zerstörungen des Myokard zeigt und
- nach 30 oder 45 Minuten induziertem Kammerflimmern mit kontinuierlicher Ventrikeldekompression keine nennenswerten morphologischen Schäden auftreten und die Funktion gut erhalten bleibt.

Nach diesen Ergebnissen bleiben Funktion und Struktur des Herzmuskels bei induziertem Kammerflimmern sehr gut erhalten. Der kardioplegische Herzstillstand bringt dagegen im Vergleich zur normothermen Ischämie funktionell und morphologisch keine Vorteile.

Die Ultrastrukturbefunde des Myokard nach unterschiedlichen Formen des Herzstillstands und nach Reperfusion des Myokard stimmen gut mit den haemodynamischen Funktionsparametern überein.

Aus elektronenmikroskopischen Untersuchungen bei derartigen Vergleichen verschiedener Operationsverfahren lassen sich deshalb Rückschlüsse auf die Funktion ziehen.

Zur Beurteilung ischämischer Schädigungen des Herzmuskels eignen sich der Grad der Mitochondrienschädigung und der Grad des Verlusts der Glycogengranula am besten.

Z u s a m m e n f a s s u n g

Bei je 10 Hunden wurden die Herzstillstandsverfahren Ischämie, Kardioplegie und induziertes Kammerflimmern funktionell und morphologisch vergleichend untersucht. Für die elektronenmikroskopische Beurteilung wurden nach dem Ergebnis der haemodynamischen Einstufung links- und rechtsventrikuläre Excisionen vor dem Herzstillstand, nach 30 bzw. 45 Minuten extrakorporaler Zirkulation und nach einstündiger Erholungsphase ausgewählt.

In der Gruppe "induziertes Kammerflimmern" war der Kreislauf auch nach 45 Minuten Herzstillstand nach der 60-minütigen Erholungsphase bei allen Versuchstieren stabil. Nach normothermer Ischämie ergab sich 5mal ein stabiler und 4mal ein instabiler Kreislauf, einmal war die extrakorporale Zirkulation bis zum Versuchsende nötig. Die Injektion einer kardioplegischen Lösung nach Abklemmen der Aorta brachte keine Verbesserung der haemodynamischen Resultate (5mal stabiler Kreislauf, einmal instabil, 4mal Maschinen-Kreislauf).

In Übereinstimmung mit den Funktionsparametern war die Ultrastruktur nach induziertem Kammerflimmern bis auf geringfügige reversible Alterationen gut erhalten.

Nach 30 Minuten ischämischem und ischämisch-kardioplegischem Herzstillstand waren Funktion und Struktur nur unwesentlich beeinträchtigt, nach 45 Minuten kam es jedoch in beiden Gruppen zu ausgeprägten, teilweise exzessiven Schädigungen, so daß die Funktion des Herzmuskels irreversibel eingeschränkt wurde. Ein Vorteil des ischämisch-kardioplegischen Herzstillstandes gegenüber der normothermen Ischämie läßt sich aus unseren Untersuchungen nicht ableiten.

Die elektronenmikroskopischen Untersuchungsergebnisse stimmen sehr gut mit den funktionellen Resultaten überein. Die besten Kriterien für die morphologische Beurteilung ischämischer Myokardschäden sind die Bewertung des Glycogengranula-Verlusts und der Mitochondrien-Läsionen.

- 1 ALBERT, H. M., A. KATTINE, B. A. GLASS, B. O. SPURLOCK:
Electron Microscopy of Cardiac Muscle During and
After Cold Cardioplegia
Circulation 24, 875-876 (1961)
- 2 ALTHAUS, U., A. SENN:
Clinical experience with the Bretschneider-
cardioplegia in aortic valve replacement
J. Cardiovasc. Surg. 12, 463 (1971)
- 3 AUSTEN, W. G., J. J. GREENBERG, J. C. PICCININI:
Myocardial function and contractile force
affected by glucose loading of the heart
during anoxia
Surgery 57, 839-845 (1965)
- 4 BECKER, V., R. FREY:
Über Herzmuskelveränderungen beim Hunde nach
koronarieller Vergiftung der fermentativen
Zellatmung
Arch. Kreislaufforschg. 19, 252-271 (1953)
- 5 BENDA, L., D. DONEFF, K. MOSER:
Der Einfluß von Segontin (Phenylpropyldiphenyl-
propylamin) auf energiereiche Phosphatverbindungen
im Herzmuskel während Sauerstoffmangels
Wien. Z. inn. Med. 45, 49-56 (1964)
- 6 BJÖRK, V. O., G. HULTQUIST:
Ultrastructural, Enzyme Histochemical and Light
Microscopic Investigation of the Myocardium in
Cases Undergoing Open-Heart Surgery
Scand. J. Thor. Cardiovasc. Surg. 1, 27-41 (1967)
- 7 BRANDT, G., A. MANTEL, R. W. HACKER, H. PRESTELLE:
Mineralpathologie der kardioplegischen
Myokardose
Verh. Dtsch. Ges. Path. 58, 554 (1974)
- 8 BUJA, L., S. LEVITSKY, V. J. FERRANS, S. G. SOUTHER,
W. C. ROBERTS, A. C. MORROW:
Acute and Chronic Effects of Normothermic
Anoxia on Canine Hearts
Circulation 43, Suppl. 1, 44-50 (1971)

- 9 BÜCHNER, F., E. MÖLBERT, L. THALE:
Das submikroskopische Bild der Herzmuskelzelle
nach toxischer Hemmung der Aerobiose
Beitr. path. Anat. 121, 145-169 (1959)
- 10 BÜCHNER, F., S. ONISHI:
Das elektronenmikroskopische Bild des Herzmuskels
bei akuter hypoxischer Herzinsuffizienz
Naturwissenschaften 54, 22 (1967)
- 11 BÜCHNER, F., S. ONISHI:
Der Herzmuskel bei akuter Koronarinsuffizienz
im elektronenmikroskopischen Bild
München-Berlin-Wien 1968
- 12 BURDETTE, W. J. and A. AL-SHAMMA:
Changes in high-energy phosphates during cardiac
arrest
Arch. Surg. 85, 4-9 (1962)
- 13 BURDETTE, W. J., T. P. ASHFORD:
Response of Myocardial Fine Structure to Cardiac
Arrest and Hypothermia
Ann. of Surg. Vol. 158/4, 512-525 (1963)
- 14 BRETSCHNEIDER, H. J.:
Überlebenszeit und Wiederbelebenszeit des
Herzens bei Normo- und Hypothermie
Verh. Dtsch. Ges. Kreislaufforsch. 30, 11 (1964)
- 15 CONN, H. L., J. C. WOOD and G. S. MORALES:
Rate of Change in Myocardial Glycogen and Lactic
Acid Following Arrest of Coronary Circulation
Circulat. Res. 7, 721-727 (1959)
- 16 DOBBERSTEIN, J., T. KOCH:
Lehrbuch der vergleichenden Anatomie der Haustiere
Hirzel-Verlag Leipzig 1954
- 17 DRAPER, M. H., S. WEIDMANN
Cardiac Resting and Action Potentials Recorded
with an Intracellular Electrode
J. Physiol. (London) 115, 74 (1951)

- 18 ENRIGHT, L. P., R. N. STAROSCIK, R. L. REIS:
Left Ventricular Function After Occlusion
of the Ascending Aorta
J. Thor. Cardiovasc. Surg. 60, 737 (1970)
- 19 ENTMAN, M. L., D. B. HACKEL, A. M. MARTIN, E. MIKAT, J. CHANG:
Prevention of Myocardial Lesions During Hemorrhagic
Shock in Dogs by Pronethalol
Arch. Path. 83, 392-395 (1967)
- 20 ENGELMAN, R. M., S. ADLER, T. H. GOUGE, R. CHANDRA, A. D. BOYD
F. G. BAUMANN:
The effect of normothermic anoxic arrest and ventricular
fibrillation on the coronary blood flow distribution
of the pig.
J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 69, 858-869, (1975)
- 21 FLECKENSTEIN, A:
Physiologie und Pathophysiologie des Myokardstoff-
wechsels im Zusammenspiel mit den bioelektrischen
und mechanischen Fundamentalprozessen
in: Das Herz des Menschen Bd. 1, Stuttgart (1963)
- 22 GIRARDIER, L.:
The Problem of the Inward Spread of Excitation in
Skeletal and Heart Muscle Cells
in: TACCARDI, B., G. MARCHETTI: Electrophysiology of
the Heart. Pergamon Press 1965, 52-70
- 23 GÜNTHER, Th. und B. HÖLSCHER:
Biochemische Untersuchungen bei verschiedenen Formen
des pharmakologischen Herzstillstandes
Thoraxchir. 10, 382-386 (1963)
- 24 HACKER, R.:
Die Auswirkungen unterschiedlicher Herzstillstands-
verfahren bei extracorporaler Zirkulation auf
Funktion und Struktur des Myokard
Habilitationsschrift, Erlangen 1975
- 25 HASPER, B.:
Ultramikroskopische Herzmuskelveränderungen nach
wiederholter Hypoxie
Beitr. path. Anat. 130, 321-350 (1964)
- 26 HAUSAMEN, T. U., R. POCHE:
Die Ultrastruktur des Herzmuskels der Ratte nach
einmaligen und wiederholten Unterdruckversuchen
Virchows Arch. path. Anat. 339, 212-224 (1965)

- 27 HECHT, A.:
Einführung in experimentelle Grundlagen
moderner Herzmuskel-Pathologie
Jena 1970
- 28 HECHT, A.:
Zur Spezifität fermenthistochemischer und
elektronenmikroskopischer Reaktionen des
Herzmuskels als Antwort auf pathologische
Reize
Z.ges.inn.Med. 24,97-102(1969)
- 29 HOFFMEISTER, H.E., H.KREUZER, W.SCHOEPPE:
Der Sauerstoffverbrauch des stillstehenden,
des leerschlagenden und des flimmernden Herzens
Pflügers Arch.Ges.Physiol.269,194(1959)
- 30 HÖLSCHER, B., O.H.JUST, H.J.MERKER:
Studies By Electron Microscope on Various
Forms of Induced Cardiac Arrest in Dog and Rabbit
Surgery 49,492-499 (1961)
- 31 HÖLSCHER, B.:
Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur
Bewertung membranwirksamer Kardioplegika für die
Wiederbelebung des künstlich stillgelegten Herzens
Thor.Chir. 14,193-200(1966)
- 32 HÖLSCHER, B.:
Untersuchungen zur Überlebenszeit des ischämischen
Herzens in ihrer Bedeutung für die offene Herz-
chirurgie
Thor.Chir.13,44-55(1965)
- 33 HÜBNER, G.:
Electron Microscopic Investigation of Cardiople-
gia.Electron Microscopy of Various Forms of
Cardiac Arrest in Correlation with Myocardial
Function
Meth.Achiev.exp.Path.5,518-539(1971)
- 34 ISSELHARD, W., W.POHL, W.J.W.BERGHOF, D.SCHMERBAUCH
und H.W.SCHÜLER:
Versuche der Verbesserung der Energiebereitstellung
Im künstlich stillgelegten Herzen und in der
Erholung bei Reperfusion
Klin.Wschr.42,757-758(1964)

- 35 KALMAR, P., U. KIRSCH, G. RODEWALD:
Klinische Erfahrungen mit Aspartaten bei
ischämischem Herzstillstand
in: Kalium-Magnesium-Aspartat
Herausgegeben von: K. HORAZ, P. RITTMEYER, Medicus-
Verlag, Berlin 1973
- 36 KIRSCH, U.:
Untersuchungen zum Eintritt der Totenstarre an
Ischämischen Meerschweinchenherzen in Normothermie
Aus: Arzneimittelforschung 20, 1071-1074 (1970)
- 37 KIRSCH, U., K. H. HACKWINKEL, H. THEMANN:
Ischämische Kontraktur des Herzmuskels-Zeichen
für irreversible Schädigung. Elektronenoptische
Untersuchungen an postischämisch reperfundierten Meer-
schweinchenherzen
Z. Exper. Chirurgie 5, 219 (1972)
- 38 KNOLL, D., U. BRAUN, J. W. GETHMANN, B. LOHR, K. PASCHEN
P. G. SPIECKERMANN, H. J. BRETSCHNEIDER:
Vergleichende Untersuchungen zur Überlebens- und
Wiederbelebungszeit des Herzens bei einigen
Cardioplegieformen
in: Kalium-Magnesium-Aspartat, Kolloquium am 30.10.1971
Herausgegeben von: HORAZ, K., P. RITTMEYER, Medicus Verlag
Berlin, 1973
- 39 KNOLL, D., H. J. BRETSCHNEIDER, H. J. GRÖNE, K. HEILBERG,
P. G. KIRCHHOFF, F. V. KOHL, J. KONCZ, H. NORDBECK,
K. STAPENHORST, P. G. SPIECKERMANN
Theoretische Grundlagen und klinische Anwendung
einer fortlaufenden Kontrolle unterschiedlicher
Herzstillstandsverfahren mit Hilfe mit Hilfe der
myokardialen pH-Messung
Thoraxchirurgie 22, 575 (1971)
- 40 KORB, G, H. DAVID:
Fluoreszenzmikroskopische und elektronenmikroskop-
ische Untersuchungen am Herzmuskel der Ratte nach
Leuchtgasvergiftung
Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 52, 549-557 (1966)

- 41 KOTTMEIER, C. A., M. W. WHEAT:
Ultrastructural Evaluation of Myocardial Preservation During Cardiopulmonary Bypass: The Mitochondrion
Thorac. Cardiovasc. Surg. 52, 786-797 (1966)
- 42 KRAUSE, E. G., A. WOLLENBERGER, M. FEDELESOVA und A. ZIEGELHÖFER:
Untersuchungen zur Penetration von Adeninnukleotiden in die Zellen des hypothermen und hypoxischen Myokard
Acta biol. med. germ. 19, 23-26 (1967)
- 43 KRAUSE, E. G., M. FEDELESOVA und A. ZIEGELHÖFER:
Verteilung und Stoffwechseleffekt von exogenem ATP im Myokard des hypotherm konservierten Herzens
1. Gemeinschaftstg. d. Dtsch. Ges. exp. Med. i. Leipzig v. 30.9.-5.10.1968
- 44 KÜBLER, W.:
Nutzbare Ischämiedauer des Herzens in Abhängigkeit von der energetischen Ausgangslage des Myokard, der Cardioplegieform und der Temperatur
Arch. Klin. Chir. 319, 648-660 (1967)
- 45 KÜBLER, W.:
Grenzen der Wiederbelebung nach physiologischen und biochemischen Kriterien
Dtsch. med. Wschr. 94, 1157-1164 (1969)
- 46 LAPP, H., M. AMTHOR:
Ultrastruktur des temporär ischämisch geschädigten Myokard
Med. welt 25, 258-260 (1974)
- 47 LÖHR, B., H. MEESEN, R. POCHE:
Elektronenmikroskopische Untersuchungen des Herzmuskels vom Hund bei experimentellem Herzstillstand durch Kaliumcitrat und Anoxie
Arch. Kreislaufforsch. 33, 108-137 (1960)
- 48 LÖHR, B.:
Induzierter Herzstillstand bei intracardialen Eingriffen mit künstlichem Kreislauf
Thor. Chir. 7, 123-130 (1963)

- 49 MEESSEN, H.:
Morphologische Befunde bei Herzinsuffizienz
und bei künstlichem Herzstillstand
Thoraxchirurgie 11, 183-188 (1963)
- 50 MEESSEN, H.:
Strukturelle Veränderungen bei Herzstillstand
und Herzstilllegung
Verh. Dtsch. Ges. Kreisf. Forsch. 30, 34-40 (1964)
- 51 MEESSEN, H.:
Ultrastructure of the Myocardium. Its Significance
in Myocardial Disease
Amer. J. of Cardiol. 22, 319-327 (1968)
- 52 MILLER, D. R., R. RASMUSSEN, B. KLIONSKY, F. P. COSSMAN,
F. F. ALLBRITTEN:
Reversibility of Morphologic Changes Following
Elective Cardiac Arrest
Ann. Surg. 159, 208-218 (1964)
- 53 MÖLBERT, E.:
Die Herzmuskelzelle nach akuter Oxydationshemmung
im elektronenmikroskopischen Bild
Beitr. Path. Anat. 118, 421-434 (1957)
- 54 NASSERI, M., E. S. BÜCHERL und R. HERBST:
Praktische Erfahrungen mit Procain Magnesium-Aspartat
in der offenen Herzchirurgie
in: Kalium-Magnesium-Aspartat, Kolloquium am 30.10.1971
Herausgegeben von: K. HORAZ, P. RITTMAYER, Medicus Verlag
Berlin, 1973
- 55 ONISHI, S.:
Mitochondrienvermehrung der Herzmuskelzelle nach
Aderlaß
Naturwissenschaften 54, 568 (1967)
- 56 PAULUSSEN, F., G. HÜBNER, D. GREBE und H. J. BRETSCHNEIDER:
Die Feinstruktur des Herzmuskels während einer Ischämie
mit Senkung des Energiebedarfs durch eine spezielle
Kardioplegie
Klin. Wochschr. 46, 165-171 (1968)

- 57 POCHE, R., H. G. OHM:
Lichtmikroskopische und elektronenmikroskopische
Untersuchungen des Herzmuskels des Menschen nach
induziertem Herzstillstand
Arch. Kreislaufforschg. 41, 86-135 (1963)
- 58 POCHE, R.:
Submikroskopische Befunde zur Pathologie der
Herzmuskelzelle bei Phosphorvergiftung, Hypertrophie,
Atrophie und Kaliummangel
Virchows Arch. path. Anat. 221, 165-248 (1969)
- 59 POCHE, R., H. NIER:
Die Ultrastrukturen der Muskelzellen und der Blut-
kapillaren des isolierten Rattenherzens nach diffuser
Ischämie und Hyperkapnie
Virchows Arch. Abt. A. Path. Anat. 346, 239-268 (1969)
- 60 POCHE, R., G. ARNOLD, H. W. REMBARZ, H. NIER:
Über den Einfluß des Sauerstoffmangels auf die
Feinstruktur des Herzmuskels im stillgestellten
und im leerschlagenden isolierten Herzen der Ratte
Beitr. path. Anat. 136, 58-95 (1967)
- 61 REIS, R. L., L. H. COHN, A. G. MORROW:
Effects of Induced Ventricular Fibrillation on
Ventricular Performance and Cardiac Metabolism
Circulation 35, 36 Suppl. I, 1-234 (1967)
- 62 SARIN, C. L., F. W. HALL, D. N. ROSS:
Effects of Extracorporeal Circulation on Left Ventricular
Function With and Without Anoxic Arrest
J. Thor. Cardiovasc. Surg. 56, 395 (1968)
- 63 SEMENOVA, L. A., YU. G. CELLARIUS, R. A. MARTYNYUK:
Some Changes of the Contractile Apparatus of The
Myocardium in Fibrillation of The Ventricles
Archiva Pathologii (UdSSR) 30, 54-59 (1968)
- 64 SENNIG, A.:
Klinische und experimentelle Erfahrungen bei der
selektiven Koronarperfusion
Langenbecks Arch. Klin. Chir. 319, 631 (1967)

- 65 STADELMANN, G., M. HERBST, J. KÜHN, H. KALKOWSKI, V. SINZ
O. DJOULFAIAN:
Experimentelle Untersuchungen zum Stoffwechsel
des stillgestellten, des kammerflimmernden und des
leerschlagenden Hundeherzens bei verschiedenen
Temperaturen während des extrakorporalen Kreislaufs
Zschr. f. exp. Cjir. 1, 51 (1968)
- 66 STONEY R. J., L. C. C. ZANGER, B. B. ROE:
Myocardial Metabolism and Ventricular Function
Before and After Induced Ventricular Fibrillation
Surgery 52, 37-46 (1962)
- 67 SULKIN, N. M., D. F. SULKIN:
Age Differences In Response To Chronic Hypoxia On The
Fine Structures Of Cardiac Muscle and Autonomic
Ganglion Cells
J. Geront. 22, 485-501 (1967)
- 68 SULKIN, N. M., D. F. SULKIN:
An Electron Microscopic Study Of The Effects Of
Chronic Hypoxia On Cardiac Muscle And Autonomic
Ganglion Cells
Lab. Invest. 14, 1523-1546 (1965)
- 69 TYERS, G. F. O., H. C. HUGHES, G. J. TODD, Dr. R. WILLIAMS
E. J. ANDREWS, G. A. PROPHET, J. A. WALDHAUSEN:
Protection From Ischemic Cardiac Arrest By Coronary
Perfusion With Cold Ringers Lactate Solution
J. Thor. Cardiovasc. Surg. 67, 411 (1965)
- 70 VOGELL, W., R. VOSS, H. R. SCHOEN, W. H. BECKER:
Elektronenmikroskopische und cytochemische Befunde
am Papillarmuskel des Kaninchenherzens nach
Sauerstoffentzug
Acta histochem. 19, 234-248 (1964)
- 71 WERNET, P., O. GIERSBERG, I. HAGEMANN, H. J. BRETSCHNEIDER:
Faktoren der Koronarperfusion beim entlastetem Herzen
Thoraxchirurgie 17, 361 (1973)

- 72 WOLLENBERGER, A.:
Losses in Mitochondria Mass, Structure And
Metabolic Capacity in The Hypertrophied Heart
Prior to Failure
4, World Congr. of Cardiology, Mexico 1963, S. 275-282
- 73 WOLLENBERGER, A., E.-G. KRAUSE, L. SHAHAB:
Über die Umstellung des Herzmuskels auf anaerobe
Energiegewinnung bei Eintritt von Myokardischämie
In Forum Cardiologicum 13: Struktur und Stoffwechsel
des ischämischen und hypoxischen Myokard, Boehringer
Mannheim GmbH 1970
- 74 BITTAR, N., J. R. KOKE, H. A. BERKHOFF, D. R. KAHN
Histochemical And Structural Changes In Human
Myocardial Cells After Cardiopulmonary Bypass
Circulation 50, Suppl. III, 18, 1974
- 75 NORDBECK, H., H. J. BRETSCHNEIDER, C. FUCHS, D. KNOLL,
F.-V. KOHL, K. SAKAI, P. G. SPIECKERMANN, K. STAPENHORST:
Methode und Ergebnisse einer neuen Form des künstl.
Herzstillstands im Tierexperiment und unter
klinischen Bedingungen
Thoraxchirurgie 22, 582 (1974)

LEBENS LAUF

Als Sohn des Zahnarztes Walter Leiß und seiner Ehefrau Hildetrud Leiß, geborene Hoffmann, wurde ich, Bernd Edmund Leiß, als zweites von drei Kindern am 20. Mai 1948 in Erlangen geboren.

Nach dem Besuch der Volksschule in Erlangen wurde ich auf das Gymnasium Fridericianum in Erlangen aufgenommen, wo ich am 23. Juli 1968 meine Reifeprüfung bestand. Vom Sommersemester 1969 bis zum Sommersemester 1970 studierte ich an der Universität Erlangen-Nürnberg Biologie.

Unter Anrechnung eines Fachsemesters wechselte ich im Sommersemester 1970 zur Medizinischen Fakultät über, wo ich im Frühjahr 1972 die Ärztliche Vorprüfung ablegte.

Im Sommersemester 1975 beendete ich mein Studium mit dem medizinischen Staatsexamen.

Bernd Leiß

Copy-Center 2000
852 ERLANGEN · Obere Karlstr. 30
Tel. 09131-26197